

A decorative horizontal border at the bottom of the page, consisting of two rows of asterisks. The top row contains 20 asterisks, and the bottom row contains 20 asterisks.


[illegible]

執行期間： 90 年 08 月 01 日至 91 年 07 月 31 日

陳信龍 教授

☐ 國際合作研究計畫國外研究報告書一份

中 華 民 國 91 年 10 月 30 日

## 中文摘要

聚羥基烷酯 (PHA) 具有許多之優點，同時符合「清潔生產」與「環保材料」的要求，因此在國內外引起學術界與工業界廣泛研究，由文獻報導中已知，現在約有將近三百種的細菌被發現能合成出 PHA，而 PHA 的單元結構也有將近九十種的組成，因此如何快速分析出發酵生產出的 PHA 結構就成為重要的課題之一，本研究即在建立分析方法，以幫助鑑定發酵所生產 PHA 的種類和結構。

本實驗以試藥級 PHA 與輔仁大學和大同大學所生產的 PHA 做為分析原料，分析的方法包括氫譜核磁共振儀( $^1\text{H-NMR}$ )、碳譜核磁共振儀( $^{13}\text{C-NMR}$ )、熱重量分析儀(TGA)、微差掃描卡計(DSC)，從分析圖譜中鑑定 PHA 的結構，再將這些 PHA 結構資料回饋給合作子計畫主持人，做為修改發酵程序之用，在這些分析方法中，以核磁共振儀分析方法( $^1\text{H-NMR}$  及  $^{13}\text{C-NMR}$ )最為方便及快速，從碳譜中可以立即判斷是否為聚羥基丁酯(PHB)單聚合體或是聚羥基丁酯戊酯(PHBV)共聚合體。而從氫譜中共振吸收峰的面積比例可以推求共聚合體中戊酯單元的比例。從 DSC 圖中知道，共聚合體的玻璃轉移溫度及熔點都較 PHB 單聚合體為低，而降低的比例隨著 HV 單元的增加而增加，熔點的降低有助於增加材料的加工性和韌性。

經由 NMR 分析後可得知，輔大光合菌 3 號所生產的為純 PHB，

而大同所生產的 PHA 則是 PHBV 共聚合體，其 HV 單元的莫耳組成爲 10.4 mol%。由 DSC 分析得知輔大光合菌 2 號所生產的 PHA-f2 爲 PHBV 共聚合體，HV 單元的含量爲 11.6 mol%，其中和 NMR 結果的差距是因爲 DSC 方法中的假設及 PHV 玻璃轉移溫度的不確定誤差所造成的。而從相同發酵液，經過不同後續處理方法後，樣品的物性有些許的變化，可見不僅是發酵程序會影響 PHA 結構、性質，其回收處理方式亦會影響樣品物性。

## **Abstract**

Poly(hydroxyalkanoate), PHA, produced from the microbial organisms has many advantages and meets all the requirements of the “environmentally friendly materials” and “green process”. Compared with the conventional commodity plastics, there are many advantages for the polymers produced by the microorganisms. Firstly, the manufacturing process is simple, where the only reactor needed is the fermentator with mostly the glucose as the carbon source. Secondly, there is no environmental pollution during the production of PHA, which is claimed to be environmentally friendly process. Thirdly, PHAs are biodegradable and biocompatible. After waste, they can be degraded completely into CO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>O by the microorganisms in the soil or in the stream. Therefore, it would be beneficial to the environment. In addition, their biocompatibility is advantageous in their use in the biomedical materials. Fourthly, the structures of polymers can be manipulated by the adjustment of the fermentative conditions.

Nowadays, three hundred kinds of bacterial have been found that can product PHA and 90 different compositions are identified in the structure unit of PHA. Therefore, it is important to establish a standard procedure to characterize the structures and compositions of PHA. In addition, this would also help understand the metabolism path of bacterial and the relationship between the structures of PHA with the carbon source. The instrumental methods, including nuclear magnetic resonance (<sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR) and thermal analysis methods (DSC, TGA) are used to analyze the structures, compositions as well as the thermal properties of the PHA materials. In this research, reagent grades PHB and its copolymers with known compositions are used for the construction of calibration curves. Then, the PHA raw materials from the Fu-Jen Catholic

University and Tatung University were analyzed for their structures and compositions. It is found that NMR is a very convenient and fast method, not only in the determination of PHA structures, but also its compositions. From the characteristic resonance peaks of various carbons in  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum, the structures of PHA are determined immediately. From the area ratio of the proton absorption peak in HV unit relative to that in HB unit, the molar percentage of HV unit in PHBV copolymers can be determined.

After NMR analysis, it is known that the PHA produced from photosynthetic bacteria-3 by Fu-Jen Catholic University is a pure PHB homopolymer. And the PHA from *Haloferax mediterranei* bacterial by Tatung University is a PHBV copolymer with 10.4 mol% of HV unit. From DSC results, the PHA produced from photosynthetic bacteria-2 is a PHBV copolymer containing 11.6 mol% of HV unit. It is also known from DSC results that the glass transition temperature ( $T_g$ ) and melting point ( $T_m$ ) of PHBV decrease as the content of HV unit increases. The decrease of  $T_m$  improves the flexibility and toughness of PHA material.

# 目 錄

頁次

壹、 緒論.....	1
貳、 文獻回顧.....	2
一、 生物可分解性塑膠.....	5
(1) 微生物發酵型	
(2) 化學合成高分子型	
(3) 天然高分子型	
二、 光分解性塑膠.....	7
(1) 最終分裂結果	
(2) 生物分解程度	
(3) 毒性測試要求	
三、 PHB 與 PHBV 簡介.....	9
(1) 合成	
(2) 代謝過程	
(3) PHB 的應用	
參、 實驗材料和方法	
一、 實驗材料.....	17
1、 藥品	
2、 實驗儀器	

二、 實驗方法.....	18
市售藥品的分析	
1、 NMR 分析	
2、 TGA 分析	
3、 DSC 分析	
輔大、大同生產之 PHA 的分析	
1、 輔大生產之 PHA	
2、 大同生產之 PHA 實驗方法	
肆、實驗結果.....	21
伍、結論.....	31
陸、未來展望.....	33
柒、參考文獻.....	35

表一、廢棄塑膠佔都市垃圾含量之比較.....	39
表二、台灣區都市廢棄塑膠材質數量分布.....	40
表三、國外生物可分解塑膠.....	41
表四、美國市場之商業化生物可分解塑膠.....	42
表五、日本市場之商業化生物可分解塑膠.....	43
表六、生物可分解塑膠材料國際標準試驗方法.....	44
表七、PHB 可能的應用.....	45
表八、NMR 分析結果.....	50
表九、市售 PHA 的 DSC 分析.....	57
表十、PHA 之 DSC 分析.....	59
圖一、H-NMR spectrum of PHB.....	46
圖二、H-NMR spectrum of PHB5%.....	47
圖三、H-NMR spectrum of PHB8%.....	48
圖四、H-NMR spectrum of PHB12%.....	49
圖五、H-NMR spectrum of PHA-d1.....	51
圖六、 <sup>13</sup> C-NMR spectrum of PHB.....	52
圖七、 <sup>13</sup> C-NMR spectrum of PHB5%.....	53
圖八、 <sup>13</sup> C-NMR spectrum of PHB8%.....	54



圖九、 $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of PHB12%.....	55
圖十、 $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of PHA-d1.....	56
圖十一、Tm 組成之線性迴歸圖.....	58
圖十二、市售 PHA 之 TGA 分析.....	60
圖十三、PHA 之 TGA 分析.....	61
圖十四、PHA 之 TGA 分析.....	62
圖十五、PHA-f1、PHA-d1 與市售 PHA 之 TGA 分析比較 .....	63

## 壹、緒論

根據統計，全球每年所生產的塑膠製品約一億多噸，其主要產品包括：聚乙烯、聚丙烯、聚苯乙烯、聚氯乙烯、尼龍、聚酯與工程塑膠等。而製造一次使用的各種包裝製品約三千萬噸，更令人驚訝的是每年丟棄在海洋的塑膠垃圾約有一千五百噸，而丟棄在河、湖、森林等的塑膠廢棄物更是不計其數，這些塑膠製品都相當安定，經過長時間也不會分解，不管是在陸地或海洋都已經形成嚴重的環保問題。

根據統計，國內每年塑膠袋生產量約二十二萬七千噸(1997,經濟部統計室)，大略的估計國內每年使用的塑膠袋總數約三十億個，大部分最終都是掩埋或焚化，目前在塑膠廢棄物無法有效的回收再利用且對於掩埋與焚化處理皆有問題，塑膠垃圾減量和發展生物可分解性塑膠已經是迫在眉梢的工作。台灣地區在與先進國家廢棄塑膠佔都市垃圾含量之比較上，顯然高出許多，如表一。而表二則為台灣區都市廢塑膠材質數量分布。

## 貳、文獻回顧

社會大眾對環境品質的要求與環保意識的提昇，以及企業界必須永續經營的理念，使得綠色工業將成為人類主要的產業政策，其中最受矚目的環保材料是生物可分解性塑膠，Chemical Week 期刊：『目前全球對生物分解性塑膠材料的需求量大約每年一萬五千公噸，但是生物分解性塑膠材料的市場即將起飛，每年將以 35% 的高成長率成長（1998/06/10）』；日本 Bio Industry：『日本環境廳的調查指出，全球生物分解性的產品在 2000 年的市場規模約可達一千億日幣，2010 年保守估計將可達五千億日幣（1997/10）』。

由以上的市場預估值來看，生物分解性塑膠材料的市場有極大的未來性，著眼於未來龐大的市場，國外 Monsanto 公司、Cargill Dow Polymers 公司、Novamont 公司、Bayer、Showa、Waner-lambert、Shimadzu 公司等國際大企業目前皆已投入非常龐大的資金在發展生物可分解塑膠，並且部分已經有商業化生產；譬如購物袋、垃圾袋、餐具、洗髮精瓶子、農業用覆蓋膜以及一些醫療用品。我國政府在 2000 年 7 月 13 日將【綠色技術工業的環保科技材料及資源化產品】列入新興重要策略性產業，對我國環保材料之發展將有極大的助益；行政院科技顧問室在 2000 年 12 月更提出了【加強環保材料產業推動方案】，已催生我國的環保材料產業，儘早建構完整的上中下游產業體系。

高分子材料由於具有許多特性，包括可以大量、快速生產，物美價廉，同時可以取代木材、金屬等有限資源，因此是現代文明不可缺少的材料。但是，高分子材料尤其是一般所謂的塑膠，由於大量使用，再加上生物難分解的缺點，因而造成嚴重的環保問題，目前世界已開發國家正逐漸對傳統塑膠的使用加以限制或強制回收，因此產業界無不積極尋找可能的解決方案，所以尋找『生物可分解性高分子材料』就是一種可能的解決方法。

有關生物可分解性高分子材料的發展，美國早在 1985 年就開始發展添加澱粉的生物崩解型塑膠，如聚乙烯/澱粉合膠，這一種塑膠並不會真正分解，但是由於有些公司卻稱其為生物可分解塑膠，因此導致消費者懷疑，進而抵制此種產品的使用。

近年來為了配合國際環保發展趨勢，歐、美、日等國家都已經積極發展真正的生物可分解性高分子，包括微生物聚酯，如 Biopol 與 PLA 等，近年來美國 Cargill 公司與 Dow 公司合作，建立年產量達 140,000 公噸乳酸生產工廠，主要是以玉米澱粉為原料經微生物發酵後生產乳酸，再以化學技術將乳酸進一步合成聚乳酸。

生物可分解性高分子材料應用市場主要是在包裝材料，這些材料的特點是短效性與一次使用後即丟棄，因此其應用範圍以購物袋、垃圾袋、農業用品及日常用品等為主，至於國內在生物可分解性高分

子材料發展，前日森工業股份有限公司( 現已改為宏力生物科技公司) 早在民國 77 年就自美國移轉玉米澱粉塑化技術，並開始投入生物可分解性玉米澱粉樹脂產品研發，而台灣聚合化學股份有限公司也於民國 79 年在財團法人工業技術研究院化學工業研究所的協助下，投入生物可分解性塑膠研究，近來偉盟工業股份有限公司也積極的與義大利 Novamont 公司合作，引進聚己內醯胺/澱粉生物可分解性塑膠產品 (2001,生物可分解材料國際研討會論文集,生物可分解材料檢測技術的建立)。

## 一、 生物可分解性塑膠

目前只有國外幾家大廠有能力生產生物可分解塑膠的原料，且產量並不多，所以原料價格非常高，如表三。而表四、五為美國、日本的生物可分解塑膠的市場狀況。

依官能基分類，生物可分解性塑膠可分成聚酯類和聚醇類，存在於聚酯類主鏈上的酯官能基，使聚合物容易被土壤中微生物所分泌的酯酵素分解，分解過程中聚合物的聚合度會降低 80~90%，到最後聚合物的分子鏈會被分解成容易被土壤中微生物消化吸收的較小分子。生物可分解性塑膠在微生物處於有氧的情況下，此類材料將會轉變為二氧化碳和水；而處於無氧的情況下，則會轉變為甲烷和水（Chiellini and Solar,1996）。依來源分類，則可再細分為下(1997,2000, 塑膠資訊)：

### （1）微生物醱酵型

此類型塑膠以 PHB 為主，PHB 可以被多數的微生物合成，作為菌體儲存能量及碳源的地方，當菌體在自然生長環境下將碳源消耗完後，為了維持生存，會生產水解酵素或解聚合酶

（depolymerase）將 PHB 分解成小分子，最後被微生物所消耗，由於 PHB 的熔點、玻璃轉移溫度和機械強度都和傳統的 PP 塑膠相近，因此將來希望由 PHB 來取代 PP 塑膠，但是 PHB 的質地

較硬而脆，不如傳統塑膠堅韌；同時熔點過於接近熱裂解溫度，加工溫度範圍狹窄。不過研究發現若能加入 30%以下的 HV 單元於 PHB 聚合主鏈中，則可降低結晶性，使材料更柔軟、更具延展性，以及增加加工溫度範圍。

## (2) 化學合成高分子型

### (a) 聚乳酸 (polylactic acid, PLA)

乳酸先經由縮合聚合反應得到低分子量的聚乳酸，再利用偶合劑將低分子量聚乳酸合成具有良好機械物性的高分子量聚乳酸。把乳酸與 glycolic acid 共聚合之聚合體，可以作為傷口縫合用的縫合線，因為其在人體上的相容性佳，亦可以用在藥物釋放控制上，或作為植入人體內之複合材料，如骨釘等。

### (b) 聚己內醯胺 (polycaprolactone, PCL)

目前由 Union Carbide 公司生產銷售，PCL 早在 1975 年時便被商業化並應用於塗料及彈性體，最近可利用押出加工製成膠膜之 PCL 材料也被開發出來，將 PCL 和 LLDPE 材料摻合後可使材料具有良好的膠膜成型性。Clendinning 等人曾將 PCL、PE、多價過渡金屬鹽類和可自發性氧化之添加劑一起摻合製成可分解之農業用移植容器，此容器可在土壤中崩解。

## (3) 天然高分子型

自然界中有許多的天然高分子材料可用來作為生物分解性的材料，由於這些材料廣泛存在於大自然中，可以提供無限的原料作為分解性材料。例如木材中含有大量的纖維素(cellulose)，馬鈴薯、玉米中含有大量的澱粉(starch)，而甲殼類動物中如螃蟹或昆蟲的外殼皆含大量的幾丁質(Shahidi et al., 1999)。其中澱粉由於便宜與具有生物分解性，使澱粉成為生物分解性材料的良好原料。但是由於澱粉質脆、韌性差，加工不易；以及容易吸溼及發霉，因此一般會和泛用塑膠混練，以改善其加工性和產品性質，可是如此一來，就無法達到 100% 的分解性，而只能稱為生物崩解性高分子。

## 二、光分解性塑膠

光分解性塑膠可利用對光敏感的官能基接於聚合物主鏈或側鏈上，或是以添加的方式加入而得；在光照射下，光分解性塑膠產生自由基引起聚合物分解(Chiellini and Solaro, 1996)。設計光分解性塑膠的主要目的在於藉由陽光的曝曬使廢棄物脆化，以避免隨意拋棄對生態環境造成危害。但是這些光分解性塑膠經陽光曝曬後所生成的產物，其生物分解性如何仍有待查證。

通常生物可分解材料的檢測方式在國際間對透過微生物來進行分解的分解性塑膠，大多依循下列三個方式來進行檢測(國際標準



組織的現行規範於新版中的檢測標準所定義的『生物可分解塑膠』)：

(1) 最終碎裂結果：經過堆肥的過程後，最終碎裂結果不得殘留有可供辨識的塑膠。

(2) 生物分解程度：需如天然可分解資材，如樹葉、木屑等，以類似的分解速率，透過微生物的分解，轉換成二氧化碳和水。

(3) 毒性測試要求：堆肥環境中，不能對作物之生長造成衝擊，以及土壤中的重金屬含量不得超過環保的限制。

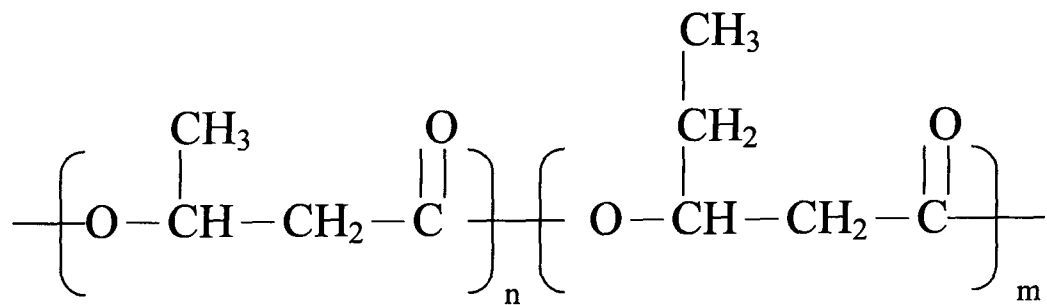
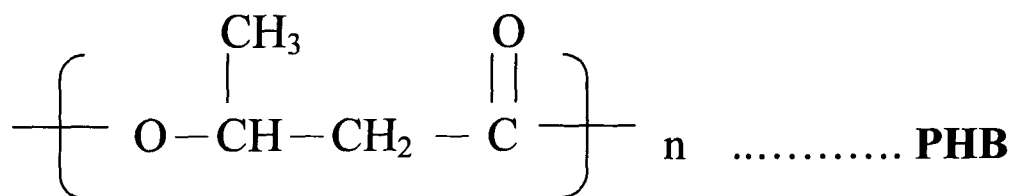
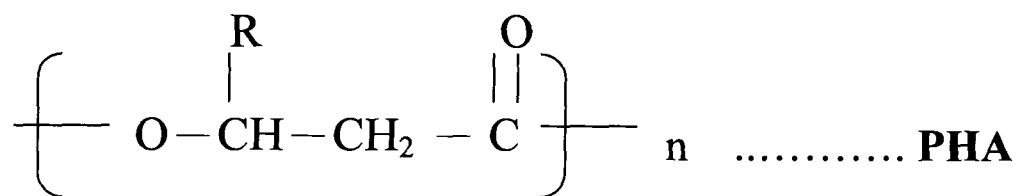
而檢測方法國際間較常用的標準有國際標準組織的 ISO14851、ISO 14852 及 ISO 14855 等三個檢測標準；而在台灣，相對應 ISO 的標準則為中國國家標準 CNS 14432、CNS 14478 與 CNS 14433。

### 三、 PHB 與 PHBV 簡介

#### (1) 合成

1926 年法國巴斯德研究所的 Lemoigne 首次從巨大芽孢桿菌 (*Bacillus megatherium*) 細胞中提取到 PHB 顆粒，從而證明了 PHB 在微生物中的存在。

許多細菌在過量碳源及缺少某些營養素時（譬如氮、磷、硫時）會產生聚羥基烷酯類，poly(hydroxyalkanoate)(PHA)，作為儲存能量或碳源的物質，等到獲得足夠的營養源或需要能量時，PHA 會由微生物在消化過程中所生產的水解酵素或解聚合酶(depolymerase)分解成小分子，最後被微生物所吸收。PHA 的一般結構式如下所示，而當 R 是甲基時，則為 Poly(hydroxybutyrate)(PHB)，為大多數細菌所生產的 PHA 種類，現在更可以藉著改變碳源，生產出 PHB 的共聚合體。



**PHBV**

六十年代初，PHB 開始在材料領域嶄露頭角，美國的 Grace 及其公司開發出小批量的 PHB，並注意到了 PHB 在可吸收縫線方面的應用，但是由於當時生物發酵、分離、加工等方面的技術上不成熟，因而無實用化的商品問世。七十年代已能在實驗室中得到純的 PHB。八十年代以後的研究還發現，許多微生物除了具有累積 PHB 的能力以外，在合適的條件下還可以累積與 PHB 結構類似的其他 PHA 或 PHB 的共聚物，從而使 PHA 作為生物可分解性塑料的物理性質和機械性能得到了改善。

英國的 ICI 公司經過 15 年的努力，1990 年首先實現了 PHA 的商業化生產，商品名為”Biopol”。他們用 *A.eutrophus* H16 的突變株 *A.eutrophus* NCIB11599，在葡萄糖-培養基上用兩階段法生產 PHB 和 PHBV 共聚物，年產量 500 噸(Yoo S and Kim W S, 1994)。

第一代可分解塑膠在 1980 年代就被大量地商業化生產，主要是由玉米澱粉和傳統塑膠摻合的合膠，可是無法達到完全可分解性的要求。因此在其後有所謂的第二代可分解塑膠開始引入。雖然這些材料可以完全分解，但是卻不被工業界所普遍接受。主要是因為這些材料的價格高於一般的不分解性塑膠。因此，希望經由增加產量和改進製程技術來降低可分塑膠的價格。1996 年 PHB 及 PLA 價格為每磅約為 \$ 25.00 USD。今天由於 PLA 產量擴大，價格降為每磅在\$1.50~3.00

USD 之間，而 PHB 每磅約 \$4.00 USD。雖然近來生產技術上的進步，降低了可分解塑膠的價格，但是價格仍比石化工業所產的塑膠為高 (Biby G. D.,2001)。

目前商業上可以利用的生物可分解高分子以 PHB 和 PHBV 為主，最初是由 Zeneca 公司(從 ICI 公司獨立出來，後來被 Monsanto 買下) 的 Biopol<sup>®</sup>產品以糖為原料經由天然微生物發酵培養所生產(目前使用葡萄糖)。Biopol 的生物技術是由細菌 *Alcaligenes eutrophus* 從糖經由發酵過程中生產 3-hydroxybutyric acids 和 3-hydroxyvaleric acids 所組成的線性聚酯。Biopol 暴露在空氣甚至處於潮濕狀況都是非常穩定的，僅僅當這類聚合物暴露在有微生物環境中，如土壤、污泥、河底部和其他的類似環境中，才會分解成二氧化碳和水。

材料的生物分解速率取決於材料厚度及細菌的數量。垃圾掩埋模擬發現 Biopol 瓶子超過 19 週後，於有氧狀況下重量減少了 30%；無氧狀況下重量減少了 80%。Biopol 於沒有氧氣狀況下分解得更迅速，因此非常適合掩埋於土壤中(Kim, S. H. and Y. H. Kim., 1999)。Biopol 樹脂經由不同加工方法轉變成各種形式的塑膠產品，取決於使用樹脂的物理性質。大約 1994 年第一個主要產品為生物可分解性的洗髮精瓶子。然而，因為 Biopol 價格約為 \$4~6 USD，比其他可分解性樹脂的價格略高，因此在市場上推展不易，不過由於歐洲國家已制定法律

必須使用生物可分解性塑膠，其中德國特別支持生物可分解性塑膠產品，所以歐洲及日本為 Biopol 的主要市場。目前每年銷售至歐洲估計約為 300 公噸 (Kim, S. H. and Y. H. Kim.,1999)。

在韓國，PHB 和它的共聚物是第一個引進市場的生物可分解性塑膠，在 1990 年 Kohap Ltd. 發表了 PHB 產品，他們是利用較便宜的原料，如糖、玉米剩餘物和魚油進行發酵培養來生產 PHB。

1991 年 Kohap Ltd.利用植物生產 PHB 和 PHA。除 Kohap Ltd. 以外，尚有其他研究組織和公司在研發。如 KAIST (Korea Advanced Institute of Science and Technology)之 Chang 教授也致力於研究這個領域，此外尚有 Sang Yup Lee 教授於 1995 年成功的利用重組基因技術從 *Alcaligenes eutrophus* 中截取 PHA 生物合成基因轉植到 *E. Coil* 大量生產 PHB 及 PHBV，並且利用饋料培養來提高 PHB 的產量，(Kim, S. H. and Y. H. Kim.,1999)。

PHBV 中最具代表性的是目前 Monsanto 公司(原 Zeneca)生產的 PHB 及其共聚合體 PHBV，poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate)。

PHB 和 PHBV 一般是以 *Alcaligenes eutrophus* 菌種在厭氧狀態下，以糖類發酵所得到的聚酯，由不同的發酵條件與糖類，可以改變其 HV/HB 的比例和分子量大小分布。PHBV 物性與一般聚丙烯相當，可藉由 Valerate 之含量控制其物理和機械性質，增加 Valerate 的比例，

可以提高材料的延伸性與柔軟性，並可使得材料之熔點降至 100℃左右，增加加工性。

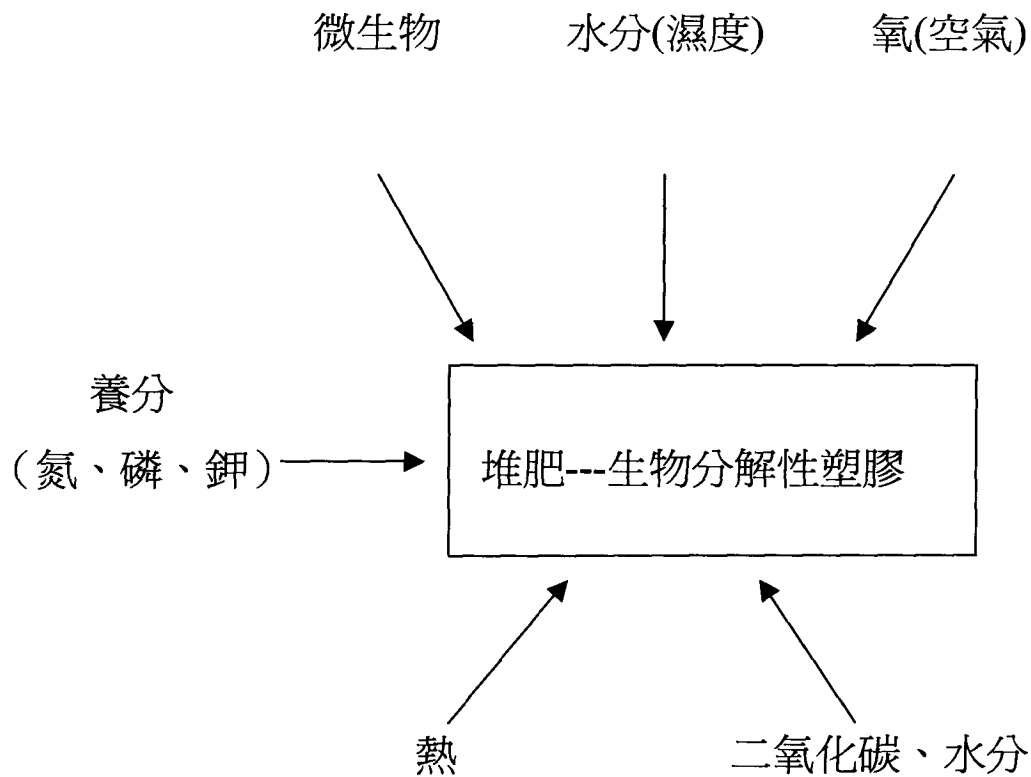
## （2）代謝過程

就目前研究結果顯示，能形成 PHA 的細菌種類分布甚廣。並且所形成的 PHA 佔該細胞乾重比為 30%至 80%，其中以 *Alcaligenes* 屬的含量較高，最高可達 96%。若以 *Alcaligenes eutropus* 為形成 PHA 的細菌模型代表，則可從 PHA 的合成與分解等生化代謝過程，進一步了解和控制其 PHA 的生產。主要影響和控制 PHA 的合成是一轉化酶 acetyl-CoA acyltransferase。

當細菌在平衡生長狀況下，細胞內 CoA 酵素的濃度會增加，而抑制了 acetyl-CoA acyltransferase 酵素的生長。在不平衡的生長狀況下，細胞內 NADH 的濃度會增加而抑制了 CoA 酵素的生長，因此轉化酶得以生成而導致 PHA 的合成。假使發酵繼續進行，當碳源缺乏時，合成 PHA 的反應會停止，而逆反應則會開始進行。

PHA 在自然環境下，能被分解成可再利用物質的特性，是引起人們對 PHA 注意的主要原因之一。而其分解機制有下列兩種途徑：第一種是在無微生物參與時的水解反應，此反應速率隨著 pH 值增高而增快。另一種則是藉著微生物的酵素來分解 PHA。至目前為止，有兩種分解 PHA 酵素被分離純化出來，分別是水解酶(hydrolase)

和高分子分解酶(depolymerase)。一般相信只要是微生物自己合成的物質，微生物本身必能將其分解。



生物分解性塑膠之分解過程

### (3) PHA 的應用

PHA 的生物分解性與生物相容性是許多化學合成品所不及的，最初是應用於生物可分解性瓶子、薄膜、膠片、軟片等塑膠產品，而農業上則多用於農業覆蓋膜。另外 PHB 不透光、不透水並且能抗紫外線，所以可以應用於食品包裝工業。又因為不具毒性且生物相容



性佳，所以更可應用於生醫材料上，例如：人工骨頭、外科縫合線、外科手套等。其他應用方面，如表七所示。

PHB 可以逐漸取代石化工業之塑膠產品，唯一美中不足的地方就是 PHB 的高價位，若能克服這個問題，相信生物可分解性高分子將有極大的市場價值。

## 參、實驗材料與方法

### 一、實驗材料

#### 1、藥品

1.1 PHB : Poly(3-hydroxybutyric acid)

1.2 PHBV 5 : Poly(3-hydroxybutyric acid-co-3-hydroxyvaleric acid) , PHV  
content 5 wt. %

1.3 PHBV 8 : Poly(3-hydroxybutyric acid-co-3-hydroxyvaleric acid) , PHV  
content 8 wt. %

1.4 PHBV 12 : Poly(3-hydroxybutyric acid-co-3-hydroxyvaleric acid) , PHV  
content 12 wt. %

以上藥品皆購自 Aldrich Chemical Co.

1.5 D-chloroform( $\text{CDCl}_3$ ) , 1v/v % : 購自 ACROS

1.6 Acetone : 購自 ACROS

1.7 PHA-f1 和 PHA-f2 : 輔仁大學利用光合菌搖瓶發酵所生產。

1.8 PHA-d1、PHA-d2、PHA-d3、PHA-d4、PHA-d5 : 大同大學利用嗜  
鹽菌自動饋料發酵所生產。

## 2、實驗儀器

2.1 NMR：BRUKER；BZH300/52，300MHz。

2.2 TGA：Perkin Elmer；Pyris 1 TGA。

2.3 DSC：Perkin Elmer；Pyris 1 DSC。

## 二、實驗方法

【以下為市售藥品之分析】：

### 1、NMR 分析

分別取 50mg 之 PHB、PHBV5、PHBV8、PHB12 溶於 1ml 之  $\text{CDCl}_3$  中，因為市售的藥品不好溶，所以先將溶液隔水加熱，待其完全溶解後，再置於 NMR sample tubes 中約四公分高，進行  $^1\text{H}$ -NMR(300MHz) 和  $^{13}\text{C}$ -NMR(75.5MHz) 分析。

### 2、TGA 分析

取 3~10mg 之 PHB、PHBV5、PHBV8、PHBV12 置於白金盤上，在氮氣下定溫於 100°C 維持 10 分鐘，再以 20°C/min 的升溫速率至 600°C，進行熱裂解，觀察 PHB、PHBV5、PHBV8、PHBV12 的重量損失變化及殘餘量。

### 3、DSC 分析

取約 3~10mg 之 PHB、PHBV5、PHBV8、PHBV12 置於鋁盤中，在氮氣流量為 50ml/min 下，以 20°C/min 之升溫速率加熱，觀察 PHB、PHBV5、PHBV8、PHBV12 之玻璃轉移溫度 (T<sub>g</sub>) 及熔點 (T<sub>m</sub>) 變化，其測試溫度範圍-30°C ~200°C。

【以下為輔大、大同生產之 PHA 的分析】：

#### 1、 輔大生產之 PHA

PHA-f1：置於 Acetone 去色素。

PHA-f2：一次去色處理後，再置於 Acetone 去色素。

#### 2、 大同生產之 PHA，實驗方法如下：

(1) 取約 250ml 之 *Haloferax mediterranei* 發酵菌液(碳源為經過酵素水解之澱粉)，離心(8000rpm，1hr，4°C)後去除上層液。

(2) 加約 250ml 之去離子水，經震盪均勻後再次離心。

(3) 以 250ml 之去離子水將菌體洗出至冷凍乾燥瓶，於-80°C 冷凍過夜。

(4) 將冷凍菌液冷凍乾燥 48 小時後，得乾燥菌體約 4g，然後研磨成粉。

- (5) 取 2g 乾燥菌體，以 chloroform 萃取 6.5 小時。
- (6) 將回收之萃取液(粉紅色)減壓濃縮乾燥後得一帶狀薄膜。
- (7) 其中一小部份薄膜加入氯仿溶解後置入 Hexane，將析出物過濾回收，得乾重為 0.02g。
- (8) 其餘薄膜直接置入 Hexane 中 2 天，在乾燥秤重為 0.807g。
- (9) 產率為 41% (g PHA/g DCW)。

PHA-d1：為上述實驗步驟 8 所得之產物。

PHA-d2：為上述實驗步驟 7 所得之產物。

PHA-d3：為上述實驗步驟 2 中之去離子水，將其改為 10% 時鹽水，薄膜直接置入 Hexane 中所得之產物，產率為 50%(g PHA/g DCW)。

PHA-d4：大同較早期產品。

PHA-d5：大同較早期產品。

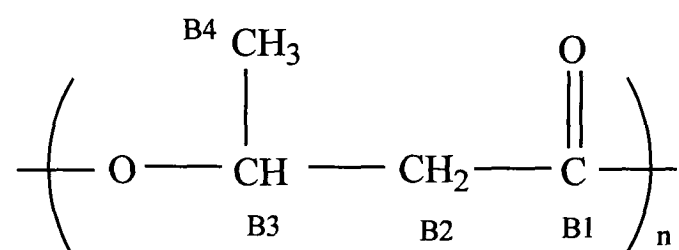
## 肆、實驗結果

文獻上最常用來分析 PHA 組成的方法是氣相層析法(GC)，早期 Braunegg 等人(1978)就曾經利用 GC 來分析 poly( $\beta$ -hydroxybutric acid)，後來研究者就依照其方法利用 Carlo Erba GC6000 gas-chromatography (Carlo Erba, Milan Italy) 配合 Cp-Sil 50CB column (25 m by 0.32 mm) 來分析 methyl-3-hydroxy acids，其控溫條件為 70°C 下進行 2min 後再升溫，溫度梯度為 10°C/min，於 280°C 下分析 6min。在此條件下，methyl-3-hydroxy acids 於 2.2min 下會有訊號出現，Huijberts 等人(1994)發現酯化反應則必須長達 4 小時，聚酯才會完全轉化成 methyl-3-hydroxy fatty acids，因此預處理及分析時間過長就成為此方法的缺點之一；另外一個缺點是 GC 分析法必須要有標準化合物來做為對照，此標準化合物非常昂貴，因此本研究尋找更方便且快速的分析方法。核磁共振儀(NMR)由於分析時間短，一分鐘內即可得到圖譜，同時圖譜吸收峰簡單明瞭且重疊性低，又可提供詳細的結構資料，因此本研究優先選擇 NMR 作為分析 PHA 結構的工具，並且同時做出<sup>1</sup>H-NMR 及<sup>13</sup>C-NMR 光譜圖，從兩個圖譜中判斷 PHA 的結構及組成含量。

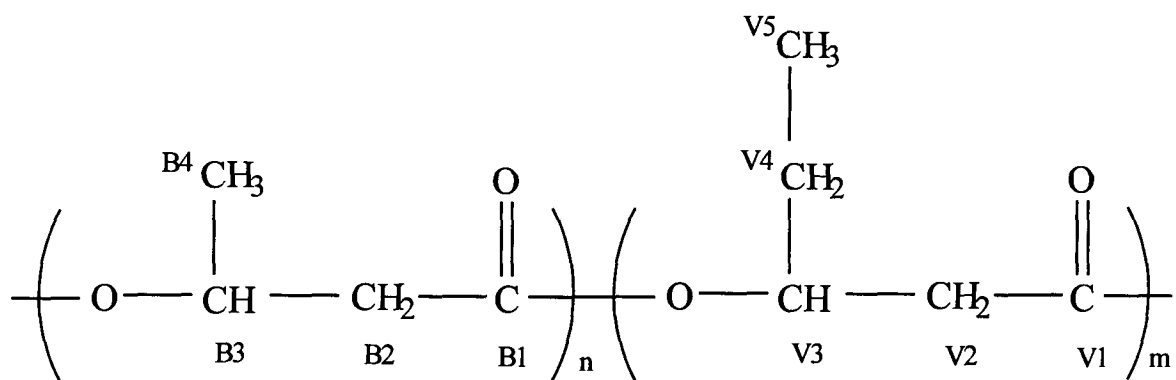
首先將試藥級 PHA(PHB、PHBV5、PHBV8、PHBV12)樣品分別進行 <sup>1</sup>H-NMR 及<sup>13</sup>C-NMR 分析，所得圖譜如圖一至圖四及圖六至圖九所

示，將其吸收峰整理於表八。其中再以<sup>1</sup>H-NMR 圖譜吸收峰的面積比值對組成含量的關係式來推導計算。

PHB 結構



PHBV 結構



## 核磁共振圖譜分析：

PHB 單聚合體的<sup>1</sup>H-NMR 光譜如圖一所示，其中甲基吸收峰（B4）的位置在 1.2ppm，而亞甲基（B2）和次甲基（B3）的吸收峰則分別在 2.5 及 5.2ppm。若是為 PHBV 共聚合體，則由於 HV 單元的存在，會額外增加一些吸收峰，如結構圖所示，其中 V2 和 B2 峰重疊，V3 和 B3 峰重疊，V5 甲基峰則偏移到 0.9ppm，額外增加了 V4 亞甲基峰，其吸收位置在 1.6ppm。由於 B4(HV 單元)和 V4、V5(HV 單元)吸收峰各自獨立，利用 NMR 吸收峰面積正比於其氫原子核數目的原理，我們可以利用其面積比來估計 HV 在 PHBV 共聚合體中的組成。方法如下：

### （1）利用 B4 及 V4 吸收峰

$$\frac{HV}{HB} = k_1 \frac{\left(\frac{A_{V4}}{2}\right)}{\left(\frac{A_{B4}}{3}\right)} \dots\dots\dots (1)$$

$$\therefore \frac{HV}{HV + HB} = \frac{3k_1 A_{V4}}{2A_{B4} + 3k_1 A_{V4}} (\text{mol \% of HV in PHBV}) \dots\dots\dots (2)$$

### （2）利用 B4 及 V5 吸收峰

$$\frac{HV}{HB} = k \frac{\left(\frac{A_{V5}}{3}\right)}{\left(\frac{A_{B4}}{3}\right)} \dots\dots\dots (3)$$

$$\therefore \frac{HV}{HV + HB} = \frac{k_2 A_{V5}}{A_{B4} + k_2 A_{V5}} (\text{mol \% of HV in PHBV}) \dots\dots\dots (4)$$



從試藥級 PHBV(5 wt%)、PHBV(8 wt%)及 PHBV(12 wt%)的圖譜分析即可求出 $k_1$ 及 $k_2$ 值，如此一來，我們就可以從已知 $k_1$ 及 $k_2$ 值，估計發酵生產 PHBV 共聚合體的組成。

#### (a) PHBV5

由於 HB 單元分子量為 86，而 HV 單元分子量為 100，因此 5 wt% 等於 4.33 mol%， $5\%(\text{wt HV/PHBV}) = 4.33\%(\text{mol HV/mol HB})$ 。PHBV5 的<sup>1</sup>H-NMR 光譜圖，如圖二所示。其中在 1.6ppm 處的 V4 亞甲基吸收峰面積為 0.2145，在 1.2ppm 的 B4 甲基吸收峰面積為 2.9304；在 0.9ppm 處的 V5 甲基吸收峰為 0.1624。利用式子 (1) ~ (4)，得到：

$$\frac{HV}{HB} = k_1' \left( \frac{0.2145/2}{2.9304/3} \right) \Rightarrow \frac{HV}{HB} = 0.1098 k_1' \Rightarrow k_1' = 0.412$$

$$\frac{HV}{HB} = k_2' \frac{0.1624}{2.9304} \Rightarrow \frac{HV}{HB} = 0.0554 k_2' \Rightarrow k_2' = 0.817$$

#### (b) PHBV8

PHBV8 共聚合體中，HV 單元佔有的莫耳分率為 6.9%。其<sup>1</sup>H-NMR 光譜圖，如圖三所示。其中在 1.6ppm 處的 V4 亞甲基吸收峰面積為 0.1853，在 1.2ppm 的 B4 甲基吸收峰面積為 2.8332；在 0.9ppm 處的 V5 甲基吸收峰為 0.3085。

$$\frac{HV}{HB} = k_1'' \frac{\left(\frac{0.1853}{2}\right)}{\left(\frac{2.8332}{3}\right)} \Rightarrow \frac{HV}{HB} = 0.0981 k_1'' \Rightarrow k_1'' = 0.762$$

$$\frac{HV}{HB} = k_2'' \frac{0.3085}{2.8332} \Rightarrow \frac{HV}{HB} = 0.1088 k_2'' \Rightarrow k_2'' = 0.688$$

### (c) PHBV12

PHBV12 共聚合體中，HV 單元佔有的莫耳分率為 10.5%。其  $^1\text{H}$ -NMR 光譜圖，如圖四所示。其中在 1.6ppm 處的 V4 亞甲基吸收峰面積為 0.4922，在 1.2ppm 的 B4 甲基吸收峰面積為 2.8484；在 0.9ppm 處的 V5 甲基吸收峰為 0.2131。

$$\frac{HV}{HB} = k_1''' \frac{\left(\frac{0.4922}{2}\right)}{\left(\frac{2.8484}{3}\right)} \Rightarrow \frac{HV}{HB} = 0.2592 k_1''' \Rightarrow k_1''' = 0.453$$

$$\frac{HV}{HB} = k_2''' \frac{0.2131}{2.8484} \Rightarrow \frac{HV}{HB} = 0.0748 k_2''' \Rightarrow k_2''' = 1.568$$

結果整理如下表所示：

取三個的平均值，可以得到：

$$k_1 = 0.542 \quad , \quad s = 0.191$$

$$k_2 = 1.024 \quad , \quad s = 0.475$$

	PHBV5	PHBV8	PHBV12	Average
$k_1$	0.412	0.762	0.453	0.542
$k_2$	0.817	0.688	1.568	1.024

大同發酵生產 PHA-d1 的<sup>1</sup>H-NMR 圖譜中（圖五），很明顯的可以看出來是屬於 PHBV 共聚合體，因為有 HV 單元的吸收峰。B4 吸收峰面積為 2.8328，而 V4 及 V5 吸收峰面積分別是 0.3743 及 0.3469。依照上式計算得知大同生產的 PHA-d1，其 HV 單元的含量為 10.4 mol%。

圖六至圖九分別為試藥級 PHB、PHBV5、PHBV8 及 PHBV12 的<sup>13</sup>C-NMR 光譜圖，其圖譜比氫譜更簡單明瞭，可以迅速判斷是否為 PHB 單聚合體或 PHBV 共聚合體，甚至萃取分離過程是否完全，是否有雜質，都可以立即判斷出來。譬如 PHBV12 之<sup>13</sup>C-NMR 圖可看出，其中含有微量雜質。這些雜質雖然微量，卻會影響到 PHBV 得結晶與物性，這可由下面的 DSC 及 TGA 圖看出來。

熱分析法：

將試藥級 PHB、PHBV5、PHBV8 及 PHBV12 樣品分別進行 DSC 分析，二次掃描的玻璃轉移溫度（ $T_g$ ）及熔點（ $T_m$ ）結果如表九所示。由表九發現到，隨著 PHV 含量的增加， $T_g$ 、 $T_m$  溫度隨之下降，熔點由純 PHB 的  $175.6^{\circ}\text{C}$  降低至 PHBV12 的  $157.9^{\circ}\text{C}$ ，且 PHBV 共聚物之  $T_m$  吸熱峰會有一 shoulder 出現，而純 PHB 則無此現象，由於純 PHB 的熔點高達  $175.6^{\circ}\text{C}$ ，質硬且脆；因此引進 HV 單元成為 PHBV 共聚合體，可以降低熔點，增加柔軟性，有利於材料的性質及加工性。

假設 PHBV 中 HB 鏈段和 HV 鏈段在無定形區域是可相容的，則可以利用 Fox Equation 來推求共聚合體中的玻璃轉移溫度。將 PHB 及不同組成的 PHBV 共聚合體的玻璃轉移溫度整理到表九中。由於 PHV 單聚合體的  $T_g$  無法知道，因此先由已知 PHBV 共聚合體的  $T_g$  推求 PHV 單聚合體的  $T_g$ ，以做為將來計算 PHBV 組成的依據。公式如下：

$$\frac{1}{T_g} = \frac{W_1}{T_{g1}} + \frac{W_2}{T_{g2}} \dots\dots\dots \text{Fox Eq.}$$

$T_g$ ：PHBV 之  $T_g$

$T_{g1}$ ：PHB 之  $T_g$

$T_{g2}$ ：PHV 之  $T_g$

$W_1$ ：PHB 之 wt%

$W_2$ ：PHV 之 wt%

(a) PHBV5

$$\frac{1}{276.45K} = \frac{0.95}{278.55K} + \frac{0.05}{T_{g2}} \quad \therefore T_{g2} = 241.81K$$

(b) PHBV8

$$\frac{1}{275.05K} = \frac{0.92}{278.55K} + \frac{0.08}{T_{g_2}} \quad \therefore T_{g_2} = 240.32K$$

所以可推定 PHV 之  $T_g$  約在 241.07K(兩者取一平均值)。

另外假設共聚合體中 PHB 結晶的熔點降低量和 HV 單元的含量成正比，即假設熔點和 HV 單元含量有一線性關係， $T_m = a \cdot \omega_{HV} + b$ ，其中  $T_m$  是 HB 鏈段結晶的熔點， $\omega_{HV}$  是 HV 在 PHBV 的重量百分率。則可以利用線性迴歸方法求出參數 a 及 b。

將 PHB、PHBV5、PHBV8 及 PHBV12 的熔點和組成含量代入上式，再利用 Excel 作圖，可得圖十一，進而得一方程式：

$$y = -1.4922x + 173.45, \text{ 即 } T_m = -1.4922 \cdot (\omega_{HV}) + 173.45$$

輔仁大學和大同大學所生產的 PHA 聚酯的  $T_g$  和  $T_m$  值列在表十。由表中知道 PHA-f1、PHA-f2、PHA-d1 及 PHA-d2 的  $T_g$  和  $T_m$  都比純 PHB 的值來得低，尤其是大同生產的 PHA，其熔點更降低至 144°C 及 140.6°C。由 DSC 結果也可以初步判斷這些 PHA 都屬於 PHBV 共聚合體。利用 Fox Equation 推求出輔大及大同生產的 PHBV 共聚合體中 HV 的含量，如下：

輔大生產之 PHA-f1：

$$\frac{1}{270.75K} = \frac{W_1}{278.55K} + \frac{W_2}{241.07K}$$

$$W_2 = 1 - W_1 \quad \therefore W_2 = 18.5 \text{ wt\%} = 15.9 \text{ mol\%}$$

輔大生產之 PHA-f2：

$$\frac{1}{272.85K} = \frac{W_1}{278.55K} + \frac{W_2}{241.07K}$$

$$W_2 = 1 - W_1 \quad \therefore W_2 = 13.5 \text{ wt\%} = 11.6 \text{ mol\%}$$

大同生產之 PHA-d1：

$$\frac{1}{271.94K} = \frac{W_1}{278.55K} + \frac{W_2}{241.07K}$$

$$W_2 = 1 - W_1 \quad \therefore W_2 = 15.6 \text{ wt\%} = 13.4 \text{ mol\%}$$

大同生產之 PHA-d2：

$$\frac{1}{271.15K} = \frac{W_1}{278.55K} + \frac{W_2}{241.07K}$$

$$W_2 = 1 - W_1 \quad \therefore W_2 = 17.6 \text{ wt\%} = 15.1 \text{ mol\%}$$

### 熱重量分析：

將試藥級 PHB、PHBV5、PHBV8 及 PHBV12 樣品分別進行 TGA 分析，結果如圖十二所示。由圖十二可看出 PHA 之熱裂解起始溫度約為 270°C，PHB、PHBV5 及 PHBV8 只有一階段，約在 330°C 結束，而 PHBV12 會有第二段裂解，約在 400°C 結束，所有樣品至 600°C 的殘餘量為零。可見 PHV 含量需高於 8%，才有可能看到第二段裂解。

將輔大、大同生產之 PHA (PHA-f1、PHA-f2、PHA-d1、PHA-d2、PHA-d3) 樣品分別進行 TGA 分析，結果如圖十三所示。再將大同較早期之 PHA 產物 (PHA-d4、PHA-d5) 進行 TGA 分析，結果如圖十四所示。另外將 PHA-f1、PHA-d1 與市售 PHA 之 TGA 分析比較示於圖十五。可看出 PHA-d1 之熱裂解溫度提早，且 PHA-f1、PHA-d1 之殘餘量較高，可能仍有部分雜質未完全去除。這部分仍需要做進一步的分析。

## 伍、結論

- 1、本研究利用核磁共振光譜儀( $^1\text{H}$ -NMR 及  $^{13}\text{C}$ -NMR)及熱分析儀 (DSC 及 TGA) 來分析 PHA 聚酯的結構、組成及熱性質。結果發現 NMR 為一方便快速的分析方法，只需要非常微量的樣品 (~50mg) 及非常短的分析時間，就可以確定出 PHA 的結構和組成。其中 PHBV 共聚合體的組成比值( $\frac{HV}{HB}$ )正比於 V4 亞甲基吸收峰 (1.6ppm) 和 B4 甲基吸收峰 (1.2ppm) 的面積比值；或者正比於 V5 甲基吸收峰 (0.9ppm) 和 B4 甲基吸收峰 (1.2ppm) 的面積比值。其校正因子  $k_1$  和  $k_2$  分別是 0.542 和 1.024。

$$\frac{HV}{HB} = 1.5k_1 \frac{A_{V4}}{A_{B4}}$$

$$\frac{HV}{HB} = k_2 \frac{A_{V5}}{A_{B4}}$$

- 2、由 NMR 分析方法中得知大同大學嗜鹽菌所生產出之 PHA-d1 為 PHBV 共聚合體，其中 HV 單元的含量為 10.4 mol%。而由 NMR 方法也得知輔仁大學光合菌 3 號所生產之 PHA 為純 PHB 單聚合體。
- 3、從 DSC 分析中知道 PHBV 共聚合體的  $T_g$  及  $T_m$  都較 PHB 單聚合體為低，降低的比例隨著 HV 單元含量的增加而增加。
- 4、由玻璃轉移溫度變化的分析可以知道大同大學所生產的 PHA-d1



的含量為 13.4 mol%，PHA-d2 則為 15.1 mol%。輔仁大學生產的 PHA-f1 含有 15.9 mol% 的 HV 單元，而 PHA-f2 則有 11.6 mol% 的 HV 單元。

- 5、熱重量分析圖譜顯示 PHA 之熱裂解起始溫度為 270°C，當 PHBV 共聚合體中 HV 單元含量在 12 wt% 以上時，可以觀察到二階段的熱裂解行為。
- 6、而從相同發酵液，經過不同後續處理方法後，樣品之物性有些許之變化，可見不僅是發酵程序會影響 PHA 之結構和性質，其回收處理方式亦會影響樣品物理性質。

## 陸、未來展望

由於環保意識抬頭，塑膠廢棄物造成的環境污染深受重視，因而有分解塑膠之研究，人們對 PHB 分解性塑膠的大量研究和應用開發，已經證明了它在未來的塑膠工業中將佔有舉足輕重的地位。

台灣的環保起步雖較晚，但是隨著世界潮流已經急起直追，加上國人對於食品安全日漸重視，PS 與 PVC 未來可能遭到被禁用的命運，而塑膠包裝材質的設計與使用，也可以回收和再利用為目標。

有人預測，如果全世界目前生產的合成塑料的 20% 用生物可分解塑膠代替，則後者的需求量為每年兩千萬噸（Chang H N, 1994）。但是 PHB 的大規模工業生產仍未實現，其中一個最主要的原因就是生產 PHB 的成本較石油化工塑料高的多。據報導，每生產一噸 PHA 所需的成本 \$800~2000（生物工程進展, 1990），而最早生產的 Biopol 的價格是 \$40 / kg；相對地石油化工生產的合成塑料則低於 \$1 / kg（Schubert P, Kruger N and Steinbuechel A, 1991）。同時，生物可分解塑膠的機械性能不如普通合成塑膠，因而生物可分解塑膠缺乏與普通合成塑膠競爭的能力，其生產與應用均受到極大的限制。

所以要真正實現 PHB 替代石油化工塑料，那麼降低生產成本和改善物理化學性質是關鍵，造成 PHB 生產成本高的主要原因是原料成本和萃取純化，因此，在菌種、發酵和分離方面，仍有許多待研究

的課題。

未來對於生物可分解性高分子材料的使用，政府在環保政策上必須要配合固體廢棄物的回收與分類，尤其是對於有機固體廢棄物的堆肥化處理。因為生物可分解性高分子材料如果裝入其他生物不可分解的塑膠或物質，然後再棄置於掩埋場，則不能解決現在的環保問題。因此對於生物可分解性高分子材料的使用，必須要建立在一個完整的廢棄物資源再生循環體系才具有意義。

隨著石化原料-原油的逐漸枯竭及因應更嚴格的環保法規，在污染防治上必須要投入更為可觀的處理費用等，發展綠色生產技術將成為建立我國綠色工業極為重要的一個發展方向。因為開發可再生性資源為原料，以取代傳統石化原料、利用基因工程技術改造微生物到開發酵素，並應用生化製程達到清潔生產與環境相容性綠色產品生產，這些都將扮演極為重要之角色。

## 柒、參考文獻

- 1、 王韻婷 (2000)，高分子生物塑膠生產菌之分離，特性分析及其高分子合成基因之選殖，台灣大學農業化學研究所碩士論文。
- 2、 顏曉楓 (2001)，利用 p H-stat 控制策略進行高密度培養 *Haloferax mediterranei* 生產 poly- $\beta$ -hydroxybutyrate 之研究，大同大學生物工程研究所碩士論文。
- 3、 環保新材料~生物可分解材料國際討論會論文集 (2001)，行政院環境保護署、中華民國環保生物可分解材料協會、美國穀物協會合辦，台北。
- 4、 中華民國環保生物可分解材料協會會訊，創刊號 (2001)。
- 5、 2000 環境材料及產業應用國際研討會 (2000)，國立清華大學材料科學中心主辦。
- 6、 工業技術人才培訓-生物可分解性塑膠之加工及應用研討會 (1997)，經濟部工業局。
- 7、 葉梁、宋艷茹，生物技術生產生物可降解塑料 PHB 的研究進展，生物技術通報 (1998 年 3 期)，北京。
- 8、 賀文楠、張增民、胡平，以葡萄糖為碳源合成生物降解性聚酯的研究，高分子學報 (1999 年 12 月第六期)，北京。
- 9、 可分解塑膠研討會專刊，行政院環保署和美國飼料穀物協會主

- 辦，(1997) 台北。
- 10、 S. J. Huang, Biodegradable Polymers in “Encyclopedia of Polymers Science and Engineering” , John Wiley & Sons, New York, 1987。
  - 11、 J. C. Huang, A. S. Wang, Adv. Polym. Technol., 10(1), 23-30 (1990)。
  - 12、 Biodegradable Polymers and Plastics, Eds. M. Vert, Feijen, A. Albertsson, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, London (1992)。
  - 13、 Y. Doi, M. Kunioka, Y. Nakamura and K. Soga, Macromolecules, 21, 2722-2727, (1998)。
  - 14、 Y. Doi, A. Tamaki, Appl. Microbiol. Biotechnol., 28, 330-33, (1998)。
  - 15、 T. L. Buihm, G. K. Hamer, Macromolecules, 19, 2871-2876, (1986)。
  - 16、 T. R. Tice, D. W. Mason and R. M. Gilley, in “Novel Drug Delivery and its Therapeutic Application, John Wiley and Sons, New York, pp. 223-235, (1989)。
  - 17、 B. Evans, Plastics Technology, 36 (5), 41 (1990)。
  - 18、 M. Nakajima, K. Atsumi and K. Kifune, “Advances in Chitin and Chitosan” , C. J. Brine ed., Elsevier Applied Science, London (1992)。
  - 19、 H. Brandl, R. A. Gross, R. W. Lenz, R. C. Fuller, Adv. In Biochem.

- Eng.,41,pp. 77-93 ( 1990 ) ◦
- 20 、 D. Byrom, Polymer Synthesis by Microorganism, in “Technology and Economics, TIBTECH” ,.Sept.,5,pp.246-250(1987) ◦
- 21 、 D. Byrom, Microbial Synthesis of Polymers and Polymer Precursors, in *Plastics from Microbes*, Ed., D. P. Mobley,Hanser Munich,pp. 24-30.(1994) ◦
- 22 、 H.Mimota, P .J. Barham and A. Keller, Polym. J., 19, pp. 1242-1253 , (1987) ◦
- 23 、 P .A .Barker, F. Mason and P. J. Barham, J. Mater. Sci., 25, 1952-1956 , (1990) ◦
- 24 、 D . Ellar, D. G. Lundgren, K. Okamura, and R. H. Marchessault, J. Mol. Biol.,35,489-502(1968) ◦
- 25 、 K. M. Bonthrone,J. Clause, FEMS Microbiol. Rev., 103,311-316 , (1992) ◦
- 28 、 Kim B S, Lee S Y, Chang H N et al, Production of poly (3-hydroxybutyric acid) by fed-atch culture of *Alcaligenes entrophus* with glucose concentration control, *Biotechnol Bioeng* , 1994 , 43: 892-898 ◦
- 29 、 Linko S, Vaheri H and Seppala J, Production of by *Alcaligenes cutriphus*

- on different carbon sources, Appl Microbiol Biotechnol, 1993 , 39: 11-15 .
- 30 、 Lee I Y, Chang H N, Park Y H et al, Production of poly-  $\beta$ -hydroxybutyrate and measurement of related enzyme activities in *Alcaligenes eutrophus*, J Ferment Bioeng, 1993 , 76(5): 416-418 .
- 31 、 Ishizaki A, Tanaka K and Takeshita T, Equipment and operation for fermentative PHB production using gaseous substrate to guarantee safety from explosion, J Chem Eng Japan , 1993 , 26(2): 225-227 .
- 32 、 Hughes L and Richardson K R, Fermentation process for the production of poly(  $\beta$ -hydroxybutyric acid) , 1984 , US4433053 .
- 33 、 Heinzle E and Lafferty R M, A Kinetic model for growth and synthesis of poly-  $\beta$ -hydroxybutyric acid (PHB) in *Alcaligenes eutrophus* H16, European J Appl Microbiol Biotechnol , 1980 , 11: 8-16 .
- 34 、 Suzuki T, Yamane T and Shimizu S, Kinetic and effect of nitrogen source feeding on production of poly  $\beta$ -hydroxybutyric acid by fed-batch culture, Appl Microbiol Biotechnol , 1986 , 24: 366-369 .
- 35 、 Suzuki T, Yamane T and Shimizu S, Mass production of poly  $\beta$ -hydroxybutyric acid with controlled carbon/nitrogen feeding, Appl Microbiol Biotechnol , 1986 , 24: 370-374 .

國家	抽樣時間	廢棄塑膠/都市垃圾(%)
法國	1989	5.3
比利時	1989	6.0
荷蘭	1991	6.8
瑞士	1990	7.2
美國	1992	7.2
日本	1991	7.3
德國	1989	7.8
台灣	1996	17.68
	1999	19.85



表一、廢棄塑膠佔都市垃圾含量之比較



成分	比例(wt%)
<b>HDPE</b>	<b>24.7</b>
<b>LDPE</b>	<b>40.3</b>
<b>PP</b>	<b>10.7</b>
<b>PP/PE</b>	<b>2.8</b>
<b>PVC</b>	<b>9.1</b>
<b>PS、HIPS、ABS</b>	<b>7.8</b>
<b>PET</b>	<b>4.7</b>

資料來源：IT IS，塑膠回收概況專題報告

1993 年 7 月

表二、台灣區都市廢塑膠材質數量分布

來源	商品名	製造商	組成	價格
微生物生產	Biopol	英國 ICI	PHBV	8.00~10.00(美元/磅)
化學合成	CPPA	比利時 Solvay	PCL	3.00(美元/磅)
	TONE	美國 UCC	PCL	2.70(美元/磅)
	EcoPLA	美國 Cargill	PLA	1.00~3.00(美元/磅)
	LACEA	日本三井東壓	PLA	800(日圓/kg)
	LACTY	日島津	PLA	800(日圓/kg)
	Bionolle	Showa	Aliphatic Polyester	600(日圓/kg)

表三、國外生物可分解塑膠

商品名	塑膠名	生產公司	使用量(噸/年)
EcoPLA	PLA	美國 Cargill	113500(mid-1996)
Biopol	PHBV	英國 ICI	5000~10000
TONE	PCL	美國 Union Carbide	<4500
	PVOH	美國 Air Product	70000~90000
Bionolle	Polyester	日本 Showa	3200
Mater-Bi	澱粉合膠	義大利 Novamont	23000
Planet		美國 Planet	4500
合 計			約 230,00 噸/年

表四、美國市場之商業化生物可分解塑膠

商品名	塑膠名	生產公司	使用量(噸/年)
Biopol	PHBV	英國 ICI	.....
Bionolle	Polyester	日本 Showa	3000
Mater-Bi	澱粉合膠	義大利 Novamont	.....
LACTY	PLA	日本 Shimadzu	100
LACEA	PLA	日本	100
		Mitsui Toatsu	
合 計			3200 噸/年

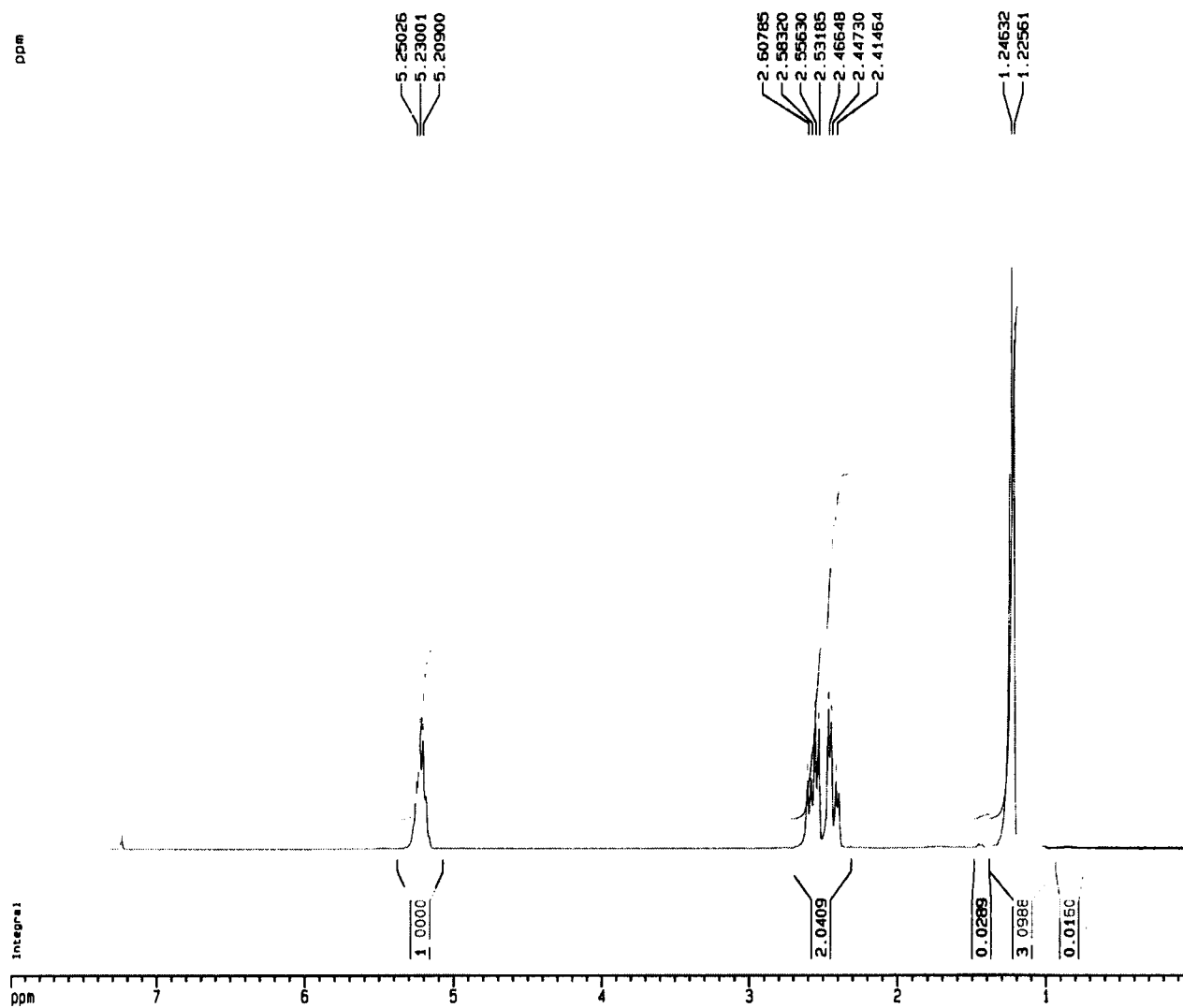
表五、日本市場之商業化生物可分解塑膠

試驗方法	CNS 14433/ ISO 14851	CNS 14478/ ISO 14852	CNS 14432/ ISO 14855
概要	好氣性水相生物分解		好氣性堆肥化 過程生物分解
植種源	1.標準化法:活性污泥		安定化熟成堆肥
	2.最適化法:馴化活性污泥、 土壤懸濁液或堆肥懸服液		
試驗體	粉體(粒徑 250μm 以下)薄膜破片成型品等		100g 薄膜、成型品或 粉體/600g 堆肥
試驗期間	依作圖判定達到時間，但最長可達 6 個月		
試驗溫度	20-25+/-1℃ (使用堆肥懸浮液時 可以使用較高的溫度		58+/-2℃ (低融點樹脂 可以使用適當溫度)
分解度評估	氧氣消耗量	二氧化碳產生量	二氧化碳產生量
試驗有效性 判定材料	特定生分解性塑膠 (微晶性纖維素粉末、纖維素紙、PHB 等)  試驗終了時，須達 60%分解度以上 試驗才判定有效		薄層色層分析用纖維素 濾紙粒徑 20μm 以下(試驗終了時 須達 70%分解度以上 試驗才判定有效)
陰性對照材料	Polyethylene		

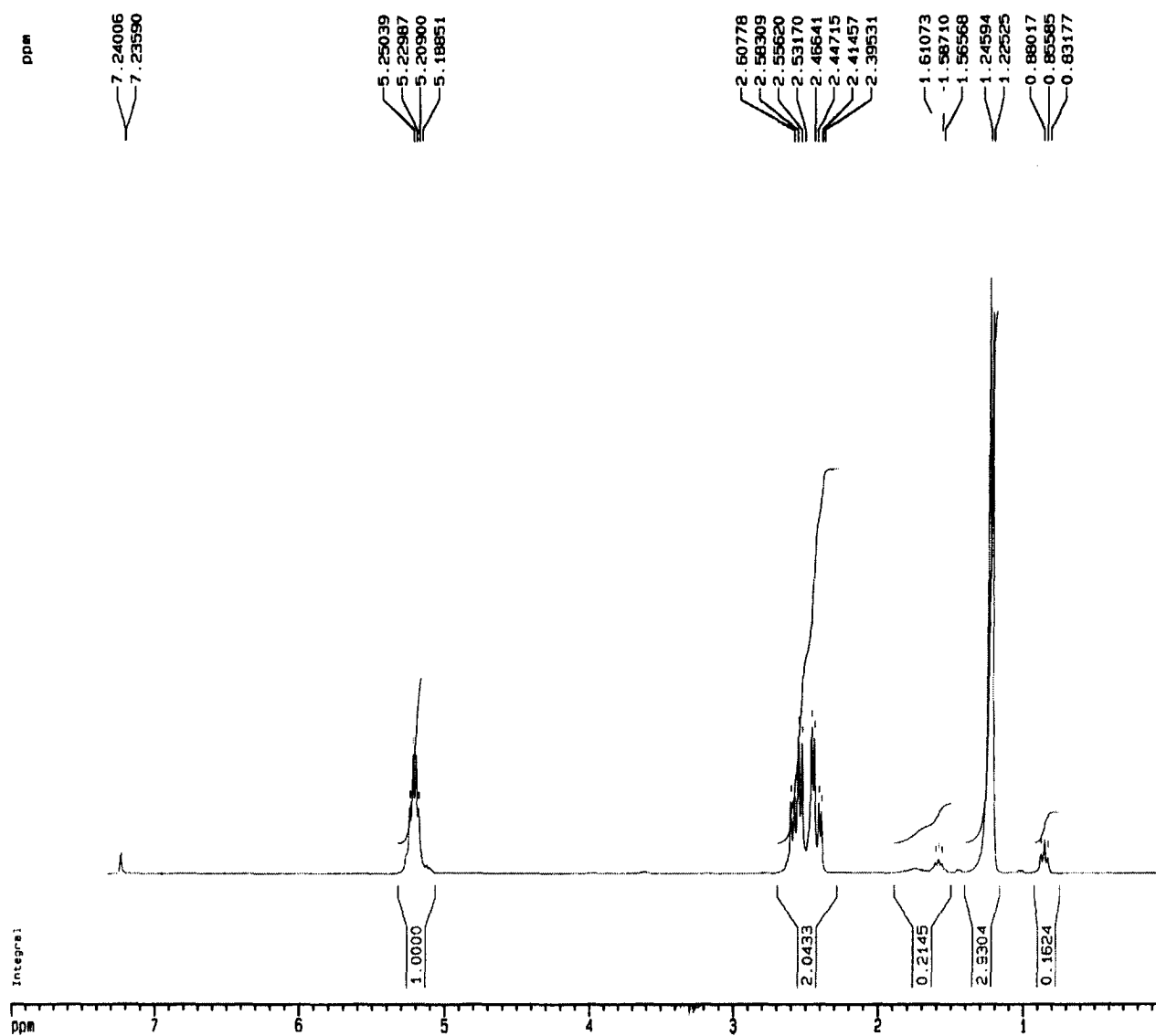
表六、生物可分解塑膠材料國際標準試驗方法

領域	可能的應用
醫 藥	體內藥物的長效緩釋膠囊
	人工骨頭
	手術縫合線
	藥棉、紗布
	包紮用品
	傷病員服裝
	外科手套
	拋棄式注射器
農 牧 業	覆蓋薄膜
	肥料殺蟲劑等的釋放膜
食品工業	食品袋、瓶、容器等包裝材料
	乳化劑
電 子	微電子電路中的屏蔽材料
日 用	婦女衛生用品
	嬰兒尿布
	丟棄式剃刀
	垃圾袋
其 他	高爾夫球座
	照相顯影劑
煙草工業	香煙過濾器

表七、PHB 可能的應用

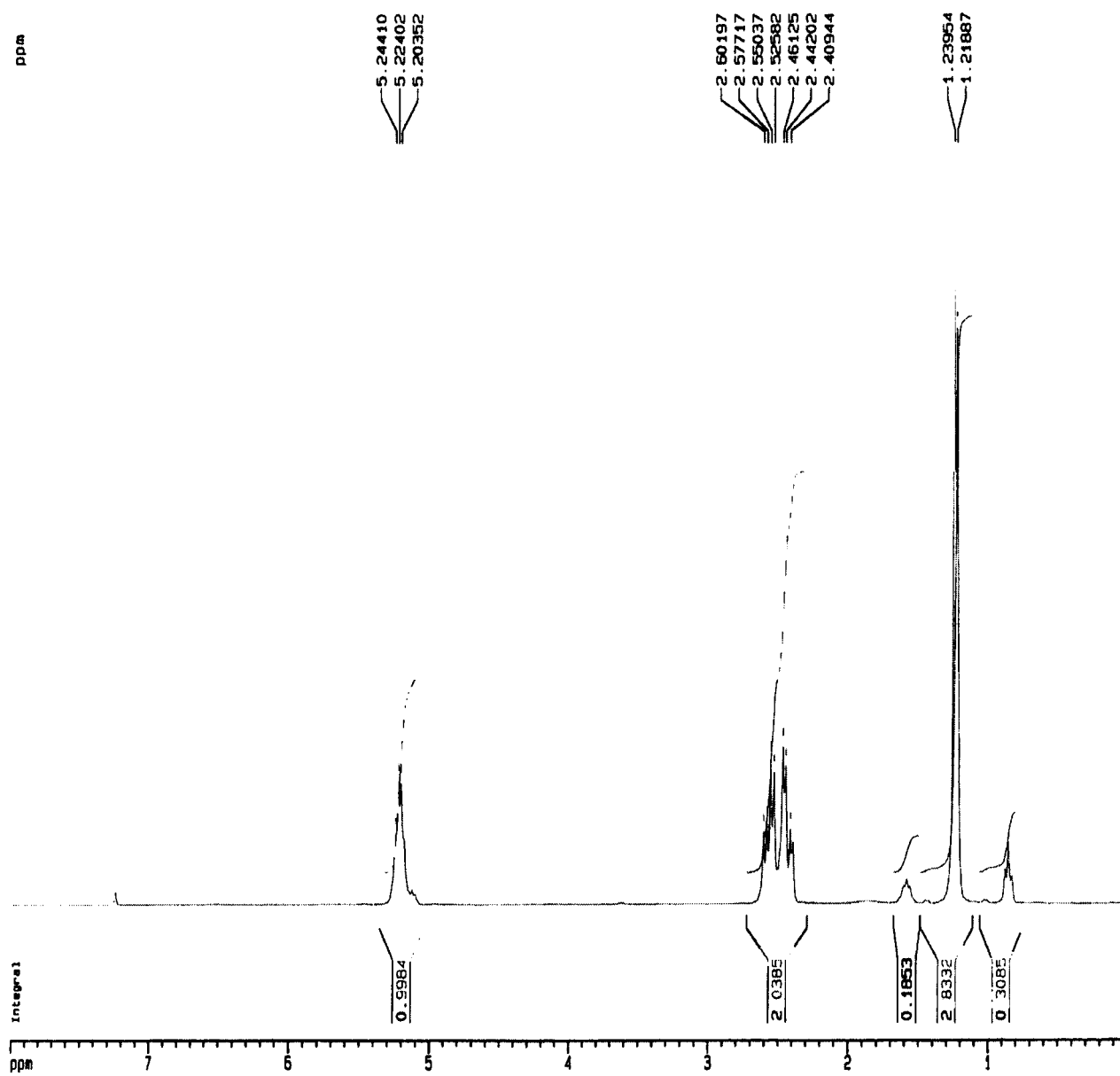


圖一、 $^1\text{H}$ -NMR spectrum of PHB

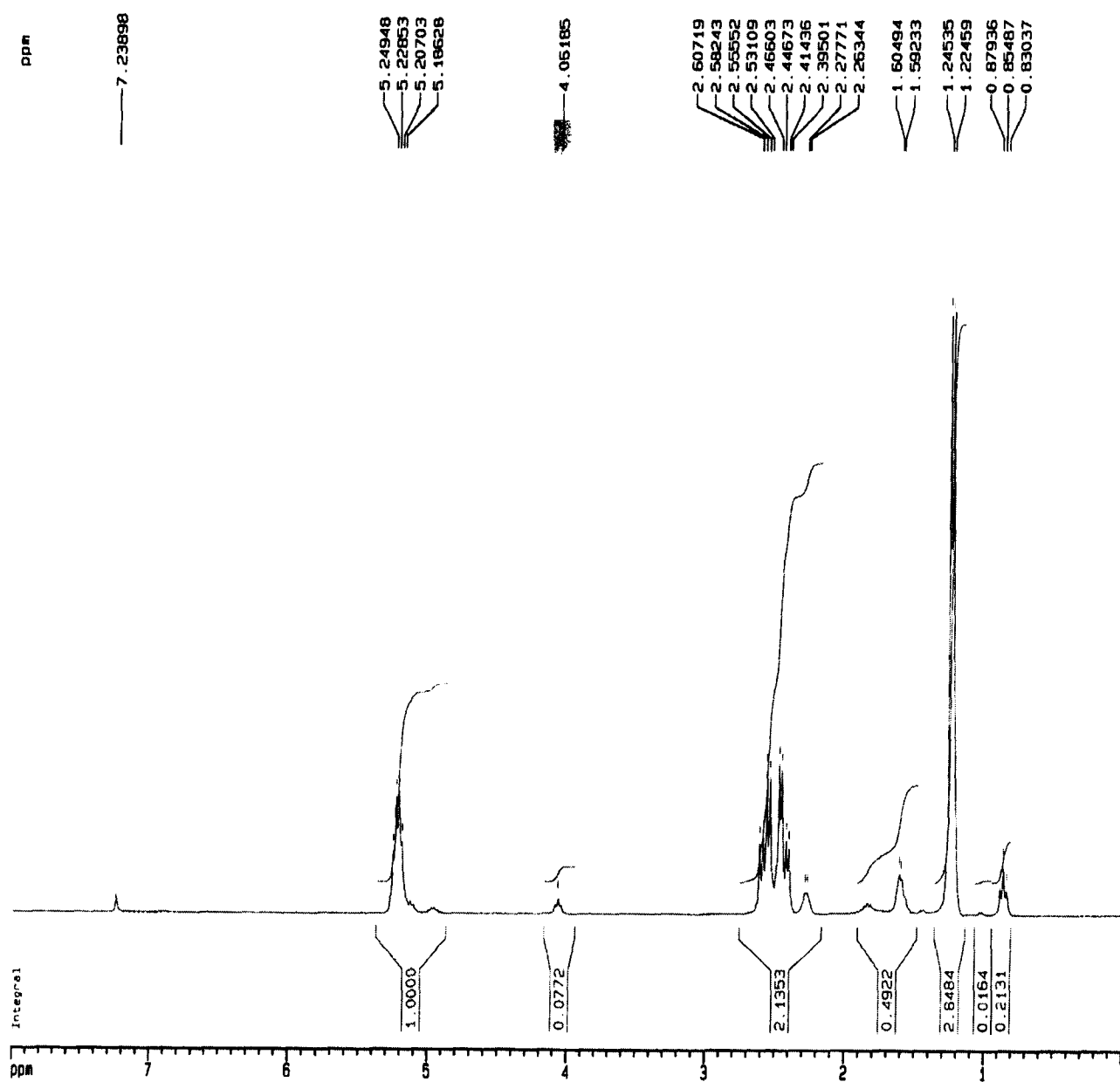


圖二、<sup>1</sup>H-NMR spectrum of PHBV5%





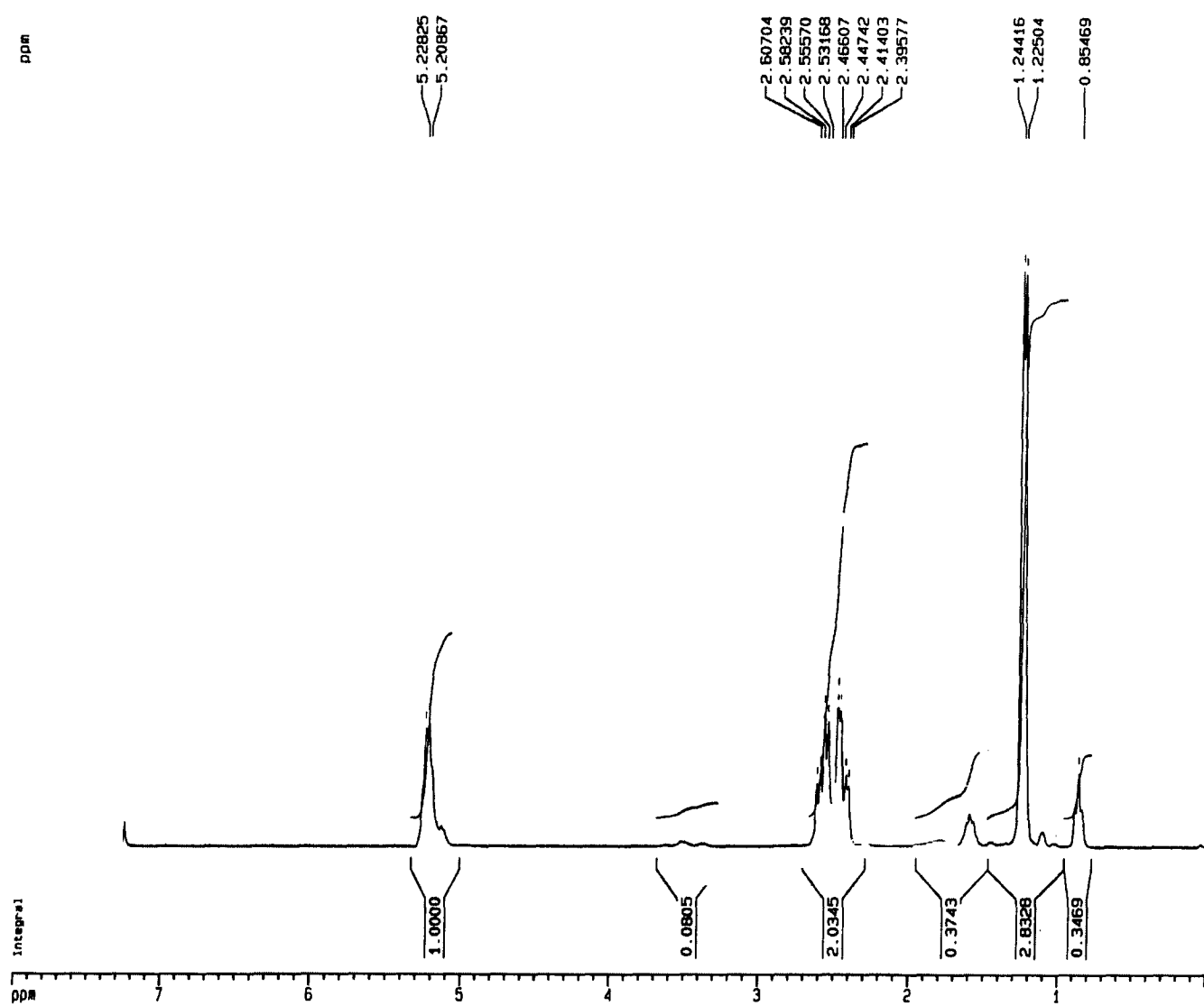
圖三、 $^1\text{H}$ -NMR spectrum of PHBV8%



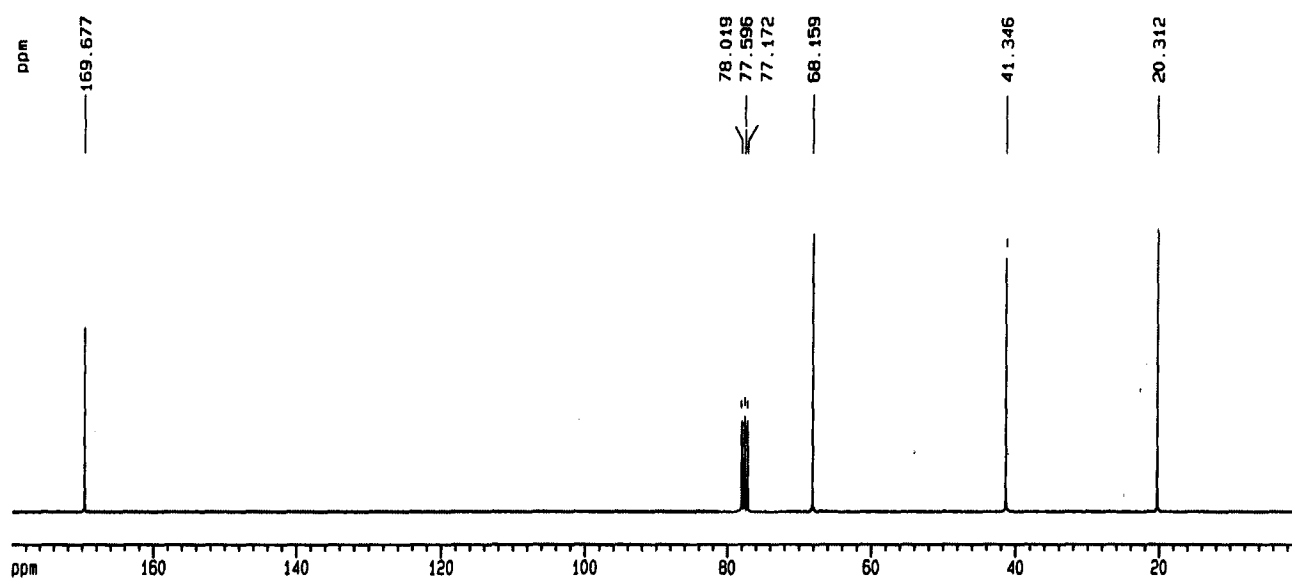
圖四、 $^1\text{H}$ -NMR spectrum of PHBV12%

	$^1\text{H-NMR}$							$^{13}\text{C-NMR}$								
	B2	B3	B4	V2	V3	V4	V5	B1	B2	B3	B4	V1	V2	V3	V4	V5
<b>PHB</b>	2.5	5.2	1.2					169.7	41.3	68.2	20.3					
<b>PHBV5</b>	2.5	5.2	1.2	2.5	5.2	1.6	0.9	169.9	41.3	68.2	20.3	169.9	38.8	72.4	27.4	9.9
<b>PHBV8</b>	2.5	5.2	1.2	2.5	5.2	1.6	0.9	169.2	40.7	67.5	19.7	169.2	38.7	71.8	26.8	9.3
<b>PHBV12</b>	2.5	5.2	1.2	2.5	5.2	1.6	0.9	169.3	40.7	67.6	19.7	169.3	38.8	71.8	26.8	9.3

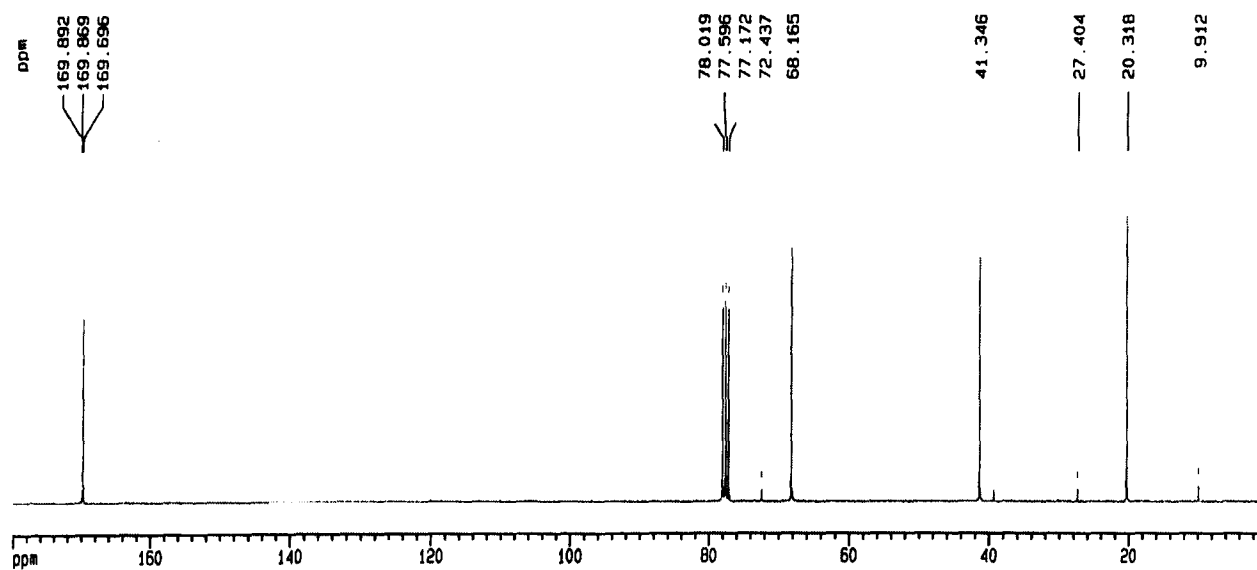
表八、NMR 分析結果



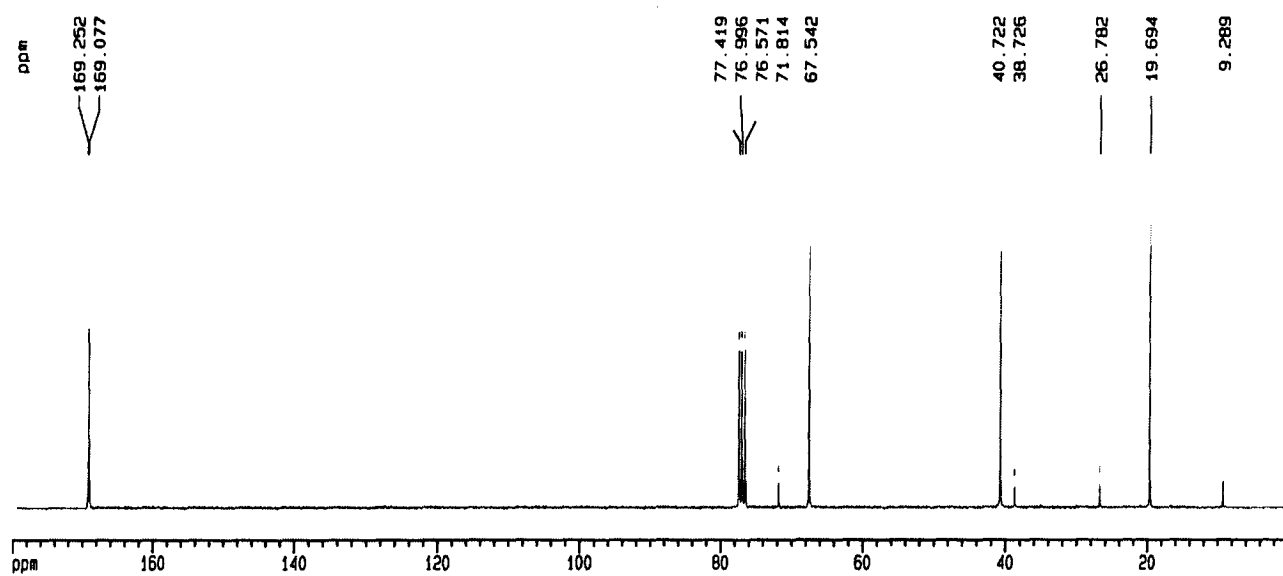
圖五、 $^1\text{H}$ -NMR spectrum of PHA-d1



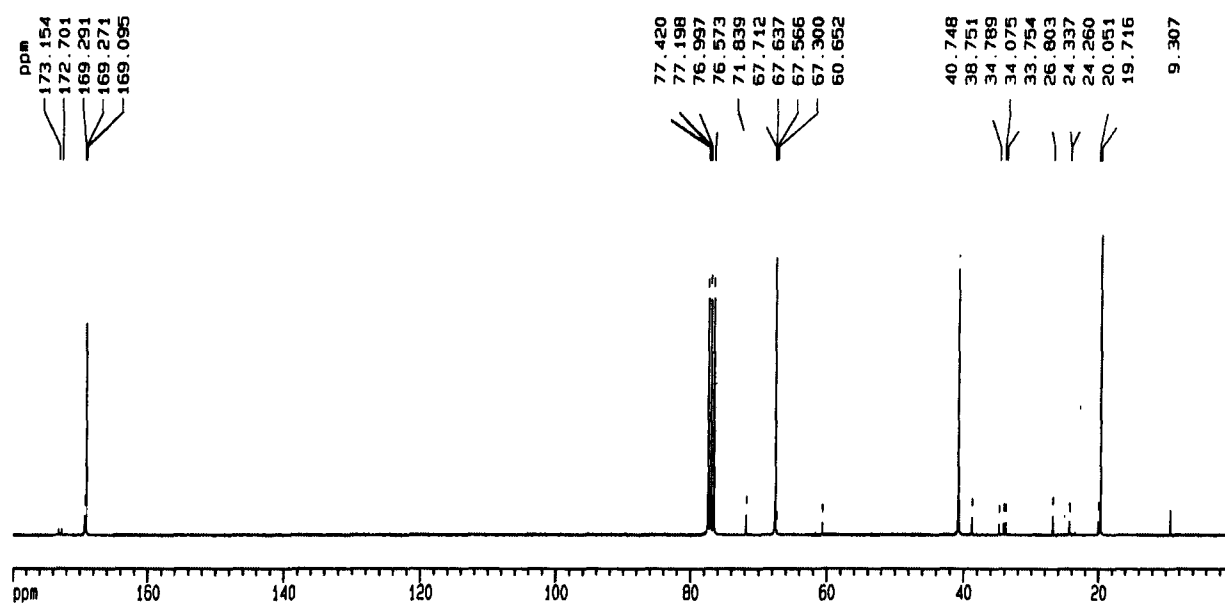
圖六、 $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of PHB



圖七、 $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of PHBV5%

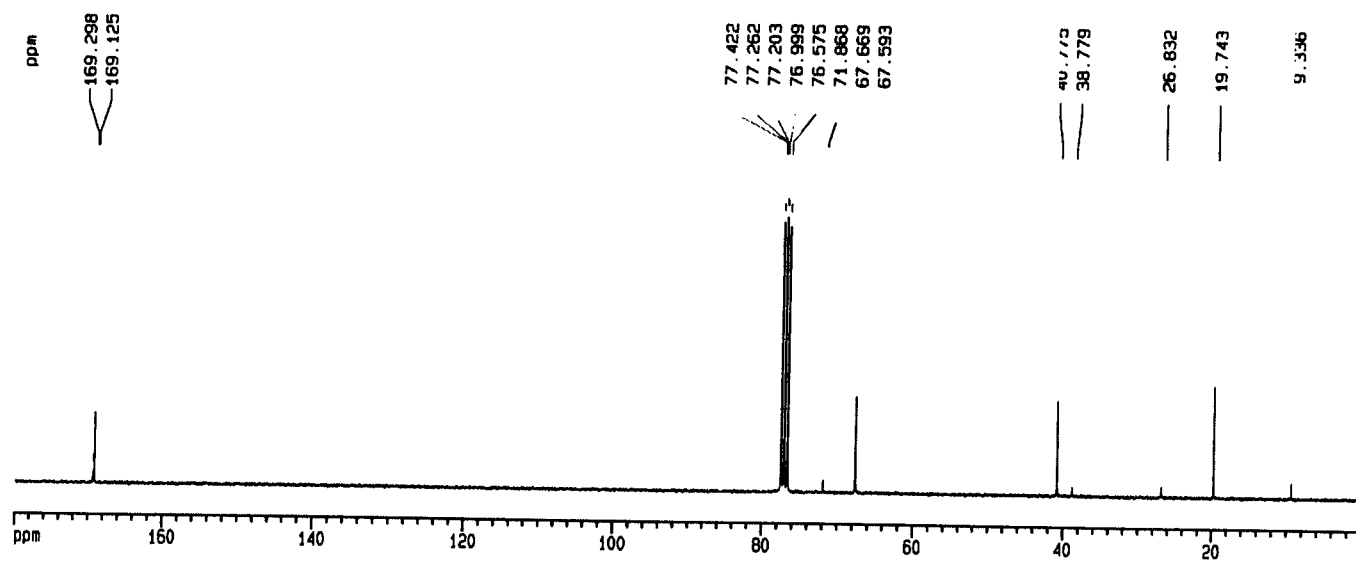


圖八、 $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of PHBV8%



圖九、 $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of PHBV12%

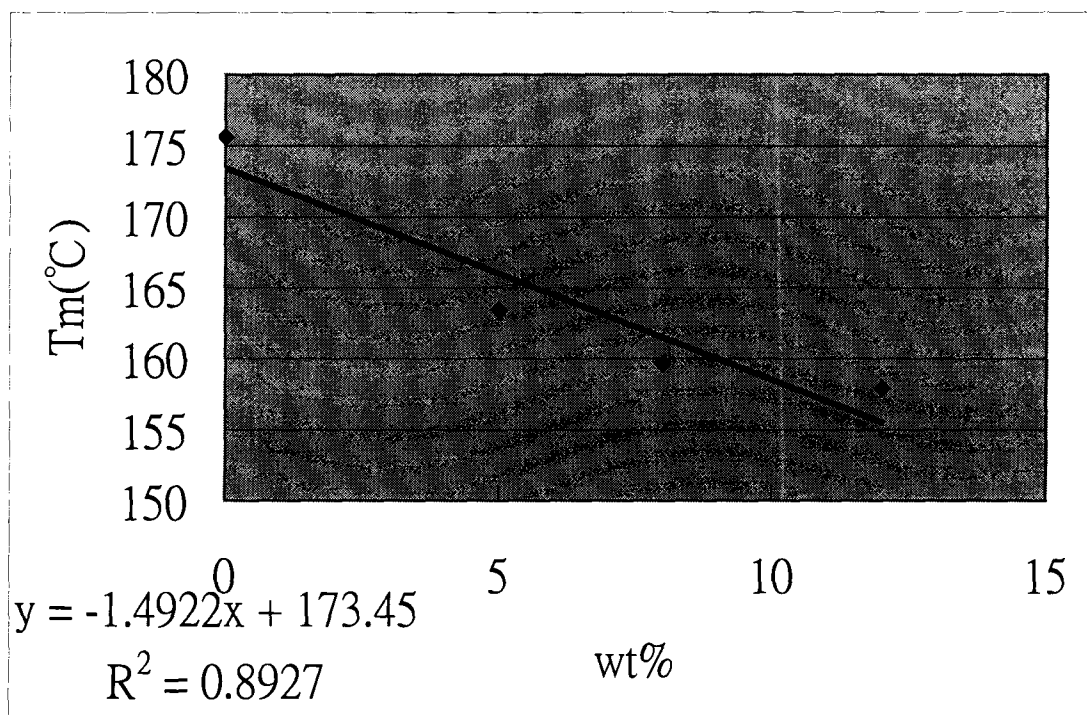




圖十、 $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of PHA-d1

	<b>T<sub>g</sub> (°C)</b>	<b>T<sub>m</sub> (°C)</b>
<b>PHB</b>	<b>5.4</b>	<b>175.6</b>
<b>PHBV5</b>	<b>3.3</b>	<b>155.3, 163.4</b>
<b>PHBV8</b>	<b>1.9</b>	<b>143.9, 159.6</b>
<b>PHBV12</b>	<b>1.5</b>	<b>151.2, 157.9</b>

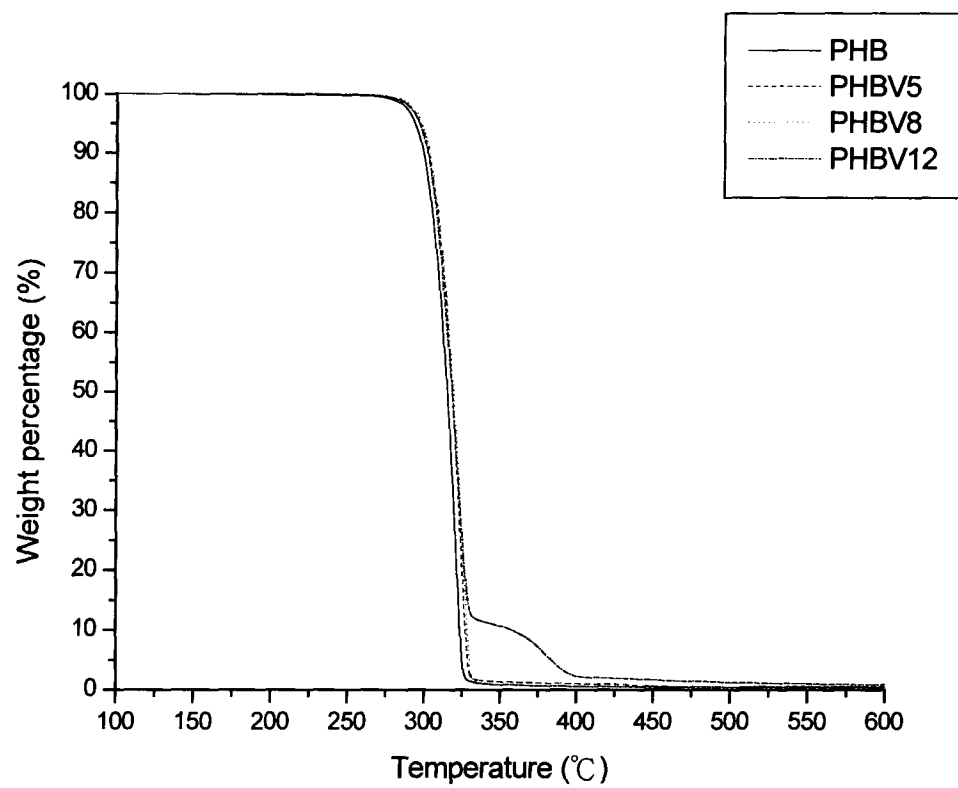
表九、市售 PHA 之 DSC 分析



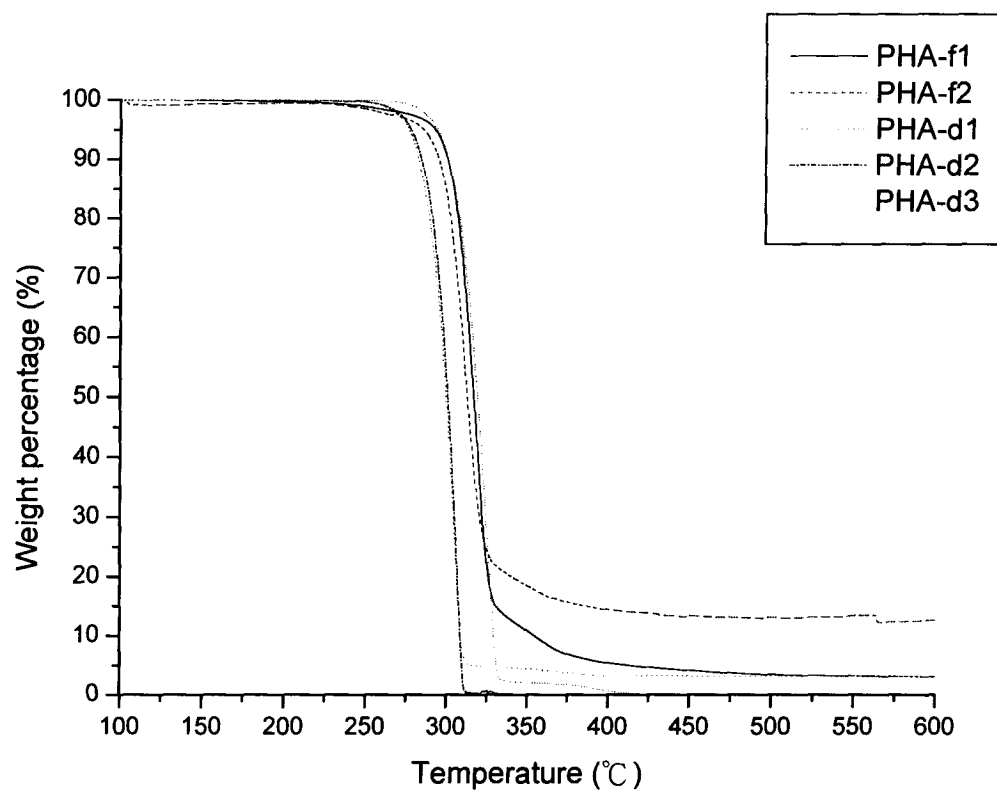
圖十一、 $T_m$  組成之線性迴歸圖

	<b>Tg (°C)</b>	<b>Tm (°C)</b>
<b>PHA-f1</b>	<b>-2.4</b>	<b>147.0, 162.1</b>
<b>PHA-f2</b>	<b>-0.3</b>	<b>147.5, 162.1</b>
<b>PHA-d1</b>	<b>-1.21</b>	<b>129.1, 144.0</b>
<b>PHA-d2</b>	<b>-2.0</b>	<b>125.4, 140.6</b>

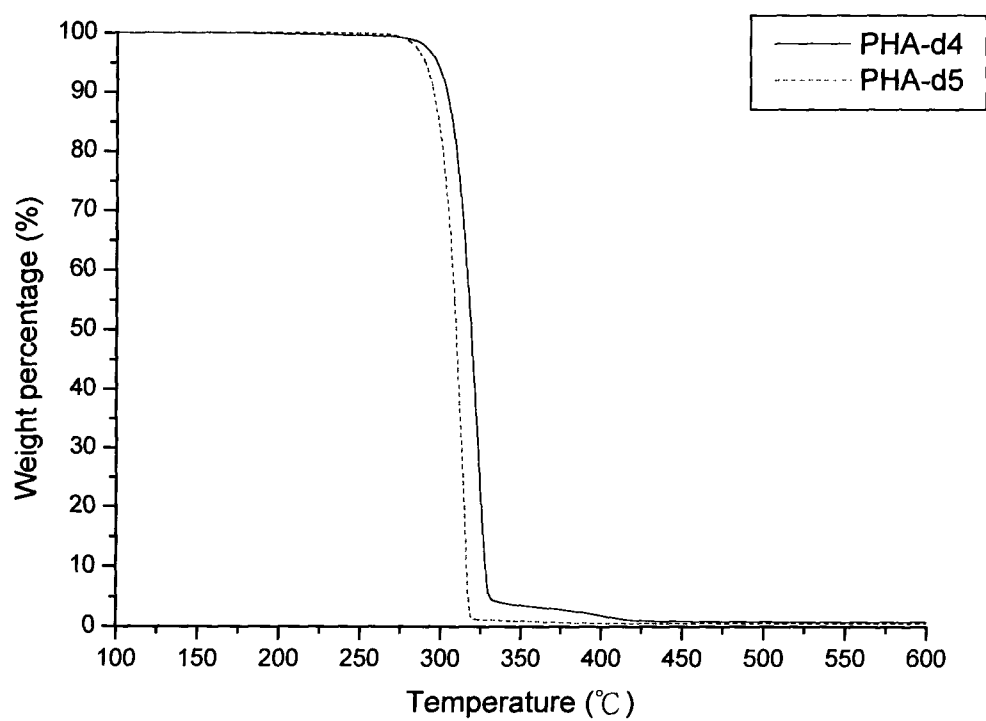
表十、PHA 之 DSC 分析



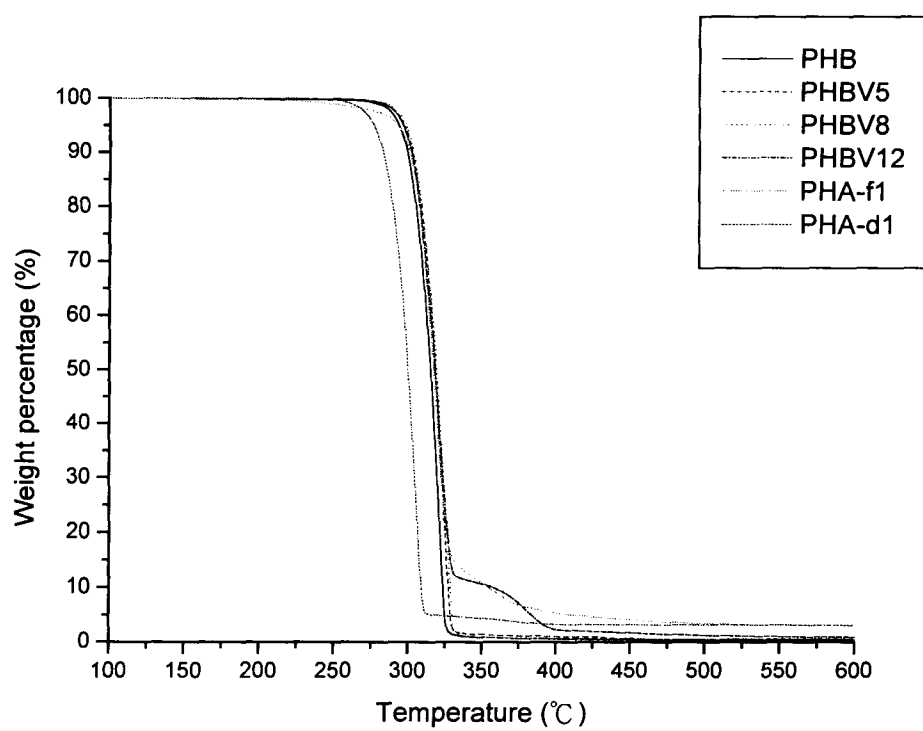
圖十二、市售 PHA 之 TGA 分析



圖十三、PHA 之 TGA 分析



圖十四、PHA 之 TGA 分析



圖十五、PHA-f1、PHA-d1 與市售 PHA 之 TGA 分析比較